



T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAŞAR PEYNİRİNİN OLGUNLAŞMASININ  
HIZLANDIRILMASINDA OTOLİTİK ÖZELLİKLİ  
*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*'İN KULLANIMI**

**Didem GÖZE**

**BURDUR, 2018**

T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAŞAR PEYNİRİNİN OLGUNLAŞMASININ  
HIZLANDIRILMASINDA OTOLİTİK ÖZELLİKLİ  
*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*'İN KULLANIMI**

**Didem GÖZE**

**Danışman: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY**  
**II. Danışman: Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK**

**BURDUR, 2018**

## YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

**Didem GÖZE** tarafından Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY ve Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK yönetiminde hazırlanan “**Kaşar Peynirinin Olgunlaşmasının Hızlandırılmasında Otolitik Özellikli *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*'in Kullanımı**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 20/09/2018

**Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY**

(Danışman)

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Müh.-Mim. Fak., Gıda Müh. Bölümü.....

**Dr. Öğr. Üyesi İlyas ÇELİK**

(Jüri Üyesi)

Pamukkale Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü.....

**Prof. Dr. Yusuf YILMAZ**

(Jüri Üyesi)

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Müh.-Mim. Fak., Gıda Müh. Bölümü.....

### ONAY

Bu Tez, Enstitü Yönetim Kurulu'nun \_\_\_\_\_ Tarih ve \_\_\_\_\_ Sayılı Kararı ile Kabul Edilmiştir.

.....  
**Doç. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ**

Müdür  
Fen Bilimleri Enstitüsü

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Kaşar Peynirinin Olgunlaşmasının Hızlandırılmasında Otolitik Özellikli *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*'in Kullanımı**” başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

20 /09/ 2018

Didem GÖZE

## **TEŞEKKÜR**

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan çok değerli danışman hocalarım Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY ve Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Yusuf YILMAZ'a ve sevgili arkadaşım Gıda Yük. Müh. Uzman Özge GÖKÇE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca hiçbir yardımı esirgemeyen değerli arkadaşım Kübra KOCATÜRK'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından desteklenen TAGEM-13/AR-GE/11 nolu projenin bir bölümüdür ve ilgili proje kapsamında desteklenmiştir. Tez çalışmasına 0450-YL-17 No'lu Proje ile maddi olarak destek sağlayan Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Tez çalışma sürecinde desteklerini esirgemeyen eşim Mustafa YÜCE ve eniştem Şükrü KAYA'ya teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında beni her anlamda destekleyen ve güç veren annem Yaşar GÖZE, babam Bilal GÖZE ve ablam Dilek GÖZE KAYA'ya sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

**Eylül, 2018**

**Didem GÖZE**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR .....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
ŞEKİL DİZİNİ.....	iii
ÇİZELGE DİZİNİ .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	v
ÖZET .....	vi
SUMMARY .....	vii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Laktik Asit Bakterileri .....	3
2.2. Bakterilerde Hücre Duvarı Yapısı ve Otoliz .....	5
2.3. Kaşar Peynirinin Tanımı ve Bazı Özellikleri.....	12
2.4. Peynir Teknolojisinde Otolizin Önemi .....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1. Otolitik Laktik Asit Bakterisi .....	16
3.2. Kültür Aktivasyonu.....	16
3.3. <i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 'in Kaşar Peyniri Üretiminde Destek Kültür Olarak Kullanımı .....	16
3.4. Peynire İşlenecek Sütte Yapılan Analizler .....	17
3.5. Peynir Örnekleri İçin Kimyasal Analiz Metotları.....	17
3.6. Toplam Serbest Yağ Asitleri Değerinin Belirlenmesi .....	18
3.7. Serbest Yağ Asitleri Kompozisyonun Belirlenmesi .....	19
3.8. Lezzet Bileşiklerinin Analizi .....	19
3.9. Peynirlerin Mikrobiyolojik Analizi .....	20
3.10. Duyusal Analiz .....	21
3.11. İstatistiksel Analiz.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....	22
5. SONUÇ .....	36
KAYNAKLAR .....	37
EKLER .....	44
ÖZGEÇMİŞ.....	45

## ŞEKİL DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Bakterilerde hücre duvarı peptidoglikanın yapısı .....	6
Şekil 2.2. Peptidoglikan yapısını hidroliz eden hidrolaz enzimleri ile spesifik kesim bölgeleri .....	7
Şekil 2.3. <i>Lactobacillus brevis</i> 'in otolizi sırasında 3 , 30 ve 60 gün süreyle MRS sıvı besiyerindeki hücre morfolojisi görüntüleri .....	9
Şekil 4.1. <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneğine ait yağ asitleri kromatogramı .....	27
Şekil 4.2. Depolama süresince kontrol kaşar peyniri örneklerinde farklı mikroorganizma sayılarının değişimi.....	34
Şekil 4.3. Depolama süresince destek kültür olarak <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> içeren kaşar peyniri örneklerinde farklı mikroorganizma sayılarının değişimi.....	34

## ÇİZELGE DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Dünya genelinde üretiminde laktik asit fermantasyonunun başlıca rol oynadığı bazı fermente gıdalar .....	3
<b>Tablo 2.2.</b> Hücrenin otolizinde rol oynayan bazı enzimler ve fonksiyonları .....	8
<b>Tablo 4.1.</b> Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin kimyasal kompozisyonu.....	22
<b>Tablo 4.2.</b> Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin pH, asitlik ve toplam serbest yağ asitliği değeri .....	24
<b>Tablo 4.3.</b> Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin suda çözünür azot, toplam azot ve olgunlaşma indeksi değerleri .....	26
<b>Tablo 4.4.</b> Kontrol ve <i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneklerinin 90 günlük depolama süresi boyunca serbest yağ asidi kompozisyonu.....	29
<b>Tablo 4.5.</b> Kaşar peyniri örneklerinde 90 gün depolama süresince belirlenen bazı uçucu lezzet bileşikleri.....	32
<b>Tablo 4.6.</b> Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinde laktobasil, laktokok ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının değişimi .....	33
<b>Tablo 4.7.</b> Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin duyu analizleri ile belirlenen lezzet açısından beğeni durumu.....	35



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ADV</b>	: Toplam serbest yağ asitliği değeri
<b>G</b>	: Relatif santrifüj kuvveti
<b>kob</b>	: Koloni oluşturan birim
<b>LAB</b>	: Laktik asit bakterisi
<b>NAG</b>	: N-asetilglukozamin
<b>NAM</b>	: N-asetilmuramik asit
<b>TGK</b>	: Türk Gıda Kodeksi



## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

#### Kaşar Peynirinin Olgunlaşmasının Hızlandırılmasında Otolitik Laktik Asit Bakterisinin Kullanımı

Didem GÖZE

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
II. Danışman: Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK

Eylül, 2018

Peynir olgunlaşması zaman alıcı ve pahalı bir süreçtir. Peynir üretiminde starter ve/veya destek kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri, peynir olgunlaşması sırasında lezzet gelişmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Peynir matriksinde starter ve/veya destek kültürlerin lizisinin arttırılması, peynir olgunlaşması sırasında proteoliz ve lipoliz gibi biyokimyasal reaksiyonları hızlandırmanın etkili bir yolu olarak önerilmektedir. Bu çalışmada yüksek otolitik aktiviteye sahip *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*'in (PFC233, 17M20, %44.30 otoliz oranı) kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak endüstriyel koşullarda kullanımı test edilmiştir. Peynir üretiminde kullanılan destek kültüre (*Lactobacillus helveticus*) ek olarak *L. lactis* subsp. *cremoris*, üretimde kullanılacak süte  $10^7$  cfu/mL olacak şekilde ilave edilmiştir. *L. lactis* subsp. *cremoris* kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak, toplam serbest yağ asitleri değeri ve serbest yağ asitleri kompozisyonu ile belirlenen lipoliz ve olgunlaşma indeksi ile belirlenen proteolize önemli bir katkı sağlamamıştır. Bununla birlikte, duyusal analiz sonuçları, *L. lactis* subsp. *cremoris*'in kaşar peyniri lezzetini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Duyusal analizlerde elde edilen sonuçlar, çalışmada lezzet verici bileşiklerin belirlenmesi için kullanılan kromatografik yöntemle doğrulanamamıştır. Daha sonraki çalışmalarda, destek kültürün daha yüksek aşılama oranlarının kullanılması ve aroma bileşiklerinin farklı analiz yöntemleriyle belirlenmesi önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Laktik asit bakterisi, Otoliz, Kaşar peyniri, Hızlandırılmış olgunlaşma

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0450-YL-17 proje numarası ve Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından TAGEM-13/AR-GE/11 proje numarası ile desteklenmiştir.

## SUMMARY

M.Sc. Thesis

Use of Autolytic Lactic Acid Bacteria to Accelerate the Ripening of Kaşar Cheese

Didem GÖZE

Burdur Mehmet Akif Ersoy University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY  
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ömer ŞİMŞEK

September, 2018

Cheese ripening is time-consuming and expensive process. Lactic acid bacteria used as starter and/or adjunct culture in cheese production play a significant role in flavor development during cheese ripening. Increasing starter and/or adjunct cell lysis in cheese matrix has been suggested as an efficient way to accelerate biochemical reactions such as proteolysis and lipolysis during cheese ripening. In this study, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (PFC233, 17M20, autolysis rate of 44.30%) were tested on industrial conditions as adjunct culture in the production of Kaşar cheese. In addition to the starter culture (*Lactobacillus helveticus*) used in the cheese production, *L. lactis* subsp. *cremoris* were added in the count of  $10^7$  cfu/mL of milk to be used in production. The use of *L. lactis* subsp. *cremoris* as an adjunct culture in the production of Kaşar cheese did not make a significant contribution to the lipolysis, which determined by the total free fatty acid value and free fatty acids composition, and proteolysis determined by ripening index. However, sensory analyses results showed that the use of adjunct culture of *L. lactis* subsp. *cremoris* affects positively the flavour of Kaşar cheese from consumer enjoyment point of view. The results obtained in sensory analyses were merely confirmed by the chromatographic method used to determine flavor compounds in the study. In subsequent studies it is suggested to use higher inoculation rates of the adjunct culture and to analyze flavor compounds in a different method.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Autolysis, Kaşar Cheese, Accelerated ripening

The present M.Sc.Thesis was supported by Coordinatorship of Scientific Research Projects of Burdur Mehmet Akif Ersoy University under the project number of 0450-YL-17 and the Ministry of Agriculture and Forestry, General Directorate of Agricultural Research and Policies under the project number of TAGEM-13/AR-GE/11.

# 1. GİRİŞ

Süt, dişi memeli hayvanların yeni doğdukları yavrularını besleyebilmek üzere süt bezlerinde salgılanan içinde yavrunun kendini besleyebilecek duruma gelene kadar almak zorunda olduğu tüm besin maddelerini yeterli miktarda bulduran porselen beyazı renkte, kendine has tat ve kokusu olan biyolojik bir sıvı olarak tanımlanmaktadır (Metin, 2005). Zengin bileşimi ve sindirilebilirlik oranının yüksek olması nedeniyle beslenme fizyologları tarafından “temel gıda maddesi” olarak kabul edilen süt, yavrunun büyümesi için gerekli olan besin öğelerinin yanında hastalıklara karşı koruyucu antikorları da içermektedir (Metin, 2014).

İçme sütü başta olmak üzere birçok ürünün hammaddesi olan sütün çok yer kaplaması, taşınmasının zor olması ve çabuk bozulması gibi nedenler onun daha dayanıklı ürünlere işlenmesini zorunlu kılmaktadır. Bu ürünler içerisinde de peynir önemli bir yer tutmaktadır (Demirci, 1994). Sütün peynire dönüşmesi, depolama stabilitesi ve ulaşım kolaylığının yanı sıra günlük diyetin çeşitlendirilmesi açısından da önemlidir (Fox, 2011).

Peynir, çok çeşitli lezzet, doku ve formlarda üretilen bir grup fermente süt ürününün genel adıdır. Dünya’da 2000’den fazla peynir çeşidinin olduğu bildirilmektedir (Hayaloğlu, 2008). Peynirin yaklaşık 8000 yıl önce, Dicle ve Fırat nehirleri arasındaki 'Bereketli Hilal' olarak adlandırılan bölge içinde geliştirildiğine inanılmaktadır (Fox, 2011). Antik Mısır mezarlarında ve klasik Yunan edebiyatında peynirlere birkaç atıf bulunmaktadır. Peynir üretiminin, Roma İmparatorluğu döneminde iyi bir şekilde yapıldığı ve birçok Romalı yazar tarafından [Cato (yaklaşık 150 M.Ö.), Varro (yaklaşık M.Ö. 40), Pliny (M.S. 23-89) ve özellikle Columella (yaklaşık M.S. 50)] tanımlandığı bilinmektedir (Fox, 2011). Roma İmparatorluğunun yıkılmasından sonra Avrupa’daki halkların büyük göçlerinin peynir üretiminin yaygınlaşmasına katkı sağladığı düşünülmektedir (Fox, 2011).

Ülkemizde elliden fazla peynir çeşidi üretilmekte olup bunların en popüler olanları beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniridir. Pıhtısı haşlanan, plastik telemeli (pasta-filata) bir peynir olan kaşar peyniri, beyaz peynirden sonra ülkemizde en fazla üretilen peynir çeşididir (Hayaloğlu, 2008). Kaşar peynirinin olgunlaşması diğer peynirlere göre daha yavaş ilerlediğinden kaşar peynirinin olgunlaşmasının hızlandırılması ile ilgili çalışmalar önemli görülmektedir.

Otoliz, peptidoglikan hidrolazları tarafından bakteriyel hücre duvarının enzimatik parçalanmasıdır. Otolizin hücre içerisinde nasıl kontrol edildiği tam olarak bilinmemektedir. Çoğunlukla suşa bağlı olarak değişen bir özellik olan otoliz çoğalma ortamındaki besin öğelerinin durumu ve çevre koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Broome vd., 2011).

Starter kültürlerin peptidazları ve peynirlerde olgunlaşmaya katkı sağlayan diğer enzimler çoğunlukla bakteri hücresi içerisinde bulunmaktadır. Hücrelerin lize olma oranları ve açığa çıkan enzimlerin peynir matriksi içerisine salıverilmeleri genel protein parçalanması ve acılığın kontrolü açısından önemlidir (Broome vd., 2011). Yapılan çalışmalar hücrelerin lize olmasının peynir olgunlaştırılmasının daha hızlı gerçekleşmesine olumlu katkılar sağladığını göstermiştir.

Kaşar peyniri olgunlaşma durumuna göre “taze” ve “olgunlaştırılmış” kaşar olmak üzere iki çeşide ayrılmaktadır. Ağırlığı 1,5 kg ve altında olan peynirlerde olgunlaştırma süresi en az 45 gün olması gerekir iken ağırlığı 1,5 kg’den fazla olan peynirlerin en az 90 gün olgunlaştırılması zorunludur (Anonim, 2015). En az 120 gün olgunlaştırılan peynirlerde “eski” tabirinin kullanılmasına Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’nde izin verilmektedir. Olgunlaşma süresinin uzunluğu nedeniyle ülkemizde eski kaşar peyniri üretimi her geçen gün azalmaktadır. Endüstriyel olarak, “eski kaşar” adıyla satılan bazı peynirlerde eritme tuzları kullanılarak peynir lezzetindeki eksikliklerin giderilmeye çalışıldığı ifade edilmektedir. Bu nedenle olgunlaştırılmış kaşar peyniri üretiminde olgunlaşmanın hızlandırılması; kısa sürede lezzet gelişimini sağlayabilecek, uzun süre olgunlaştırmadan kaynaklı maliyetleri azaltabilecek ve olgunlaştırılmış kaşar peyniri üretiminin artmasına katkı sağlayabilecektir.

Ülkemizde en çok üretilip tüketilen peynirlerden biri olan kaşar peynirinde lezzet gelişimi ve olgunlaşmanın hızlandırılması amacıyla otolitik suşların kullanımı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak otolitik özelliklere sahip destek kültür kullanılmasının, kaşar peynirinin olgunlaşma parametrelerine (proteoliz, lipoliz, aroma bileşikleri ve duyuşal özellikler) ve ve olgunlaşma hızına etkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Laktik Asit Bakterileri

Oldukça eski bir buluş olan laktik asit fermantasyonu, dünyanın farklı bölgelerindeki birçok farklı kültürde süt, sebzeler, et, balık, baklagiller ve tahıl ürünleri gibi gıdaların depolama kalitelerini geliştirmek, lezzetlerini ve besleyici kalitelerini iyileştirmek için kullanılmaktadır (Salminen ve Write, 1998; Leroy ve De Vuyst, 2004). Dünya genelinde üretiminde laktik asit fermantasyonunun başlıca rol oynadığı bazı fermente gıdalar Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Dünya genelinde üretiminde laktik asit fermantasyonunun başlıca rol oynadığı bazı fermente gıdalar (Axelsson ve Ahrné, 2000’den uyarlanmıştır)

Grup	Örnek/ler	Başlıca Üretildiği Bölge/Ülke
Süt	Peynir	Bütün Dünya
	Yoğurt	Bütün Dünya
	Kefir	Avrupa, Amerika, Rusya
	Viili	Finlandiya
Tahıllar	Ekşi hamur ekmeği	Bütün Dünya
	Idli (pirinç)	Hindistan
	Ogi (mısır, sorgum)	Nijerya
	Enjera (arpa, buğday)	Etyopya
	Tarhana	Türkiye
Baklagiller	Soya sosu	Doğu Asya
Sebzeler	Turşular	Bütün Dünya
	Kimchi (lahana, turp)	Kore
Balık/Deniz Ürünleri	Balık sosu	Güneydoğu Asya
	Rakfisk	Norveç
	Balao balao	Filipinler
Et	Fermente sucuk	Avrupa, Amerika
	Nham (domuz)	Tayland

Laktik asit bakterileri (LAB) morfolojik, metabolik ve fizyolojik özelliklerin bir araya getirilmesiyle birleştirilen bir Gram-pozitif bakteri grubudur (Axelsson, 1998). Genel olarak güvenli (GRAS) statüsünde olan LAB, filogenetik olarak oldukça yüksek heterojeniteye sahip bakteriyel bir gruptur (Burgain vd., 2014). Gruptaki bakterilerin genel tanımlanması Gram-pozitif, kok veya çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen (*Sporolactobacillus inulinus* hariç) ve karbonhidrat fermantasyonu sonucunda başlıca ürün olarak laktik asit üreten bakteriler şeklinde yapılmaktadır (Axelsson, 1998). Laktik asit

bakterileri hareketsiz, katalaz negatif, genellikle aerotolerant ve düşük pH'lı ortamlarda ( $\leq \text{pH}=5$ ) (Kılıç, 2010) ve genel olarak 10-45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilen ve tuz, asit ve/veya alkalilere direnç gösterebilen bakterilerdir (Axelsson, 1998). Gıdalarda bulunan ve/veya gıda endüstrisinde kullanılan başlıca laktik asit bakterilerini *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* gibi cinsler oluşturmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Burgain vd., 2014).

Kültürlü süt ürünlerinin üretiminde LAB'nin başlıca fonksiyonları (i) laktozun laktik asite dönüşümü, (ii) lezzet bileşiklerinin üretimi ve (iii) bazı ürünlerde ürün yapısının modifikasyonu olarak sıralanabilir (Urbach, 1995). Laktik asit, diasetil ve asetaldehit ile birlikte kültür kullanılarak üretilen fermente sütlerin ve taze peynirlerin lezzetine katkı yapan başlıca bileşiktir (Urbach, 1995). Söz konusu kültürlü süt ürünlerinde laktik asit aynı zamanda koruyucu olarak da rol oynamaktadır. Laktik asit bakterileri aynı zamanda hippurik asidi benzoik aside indirgemekte olup, fermantasyon sırasında oluşan benzoik asit kültürlü süt ürünlerinde doğal bir koruyucu olarak önemli bir rol oynayabilmektedir.

Laktik asit bakterilerinin fermantasyon proseslerinde ve dolayısıyla fermente gıdaların üretimindeki rolünün yanı sıra fonksiyonel kültür olarak uygulamaları da ön plana çıkmıştır. Fonksiyonel kültürler gıdaya farklı açılardan (mikrobiyal güvenlik, duysal, teknolojik, beslenme veya sağlık) bir ya da birkaç fonksiyon kazandıran kültürlerdir. Yapılan çalışmalarda laktik asit bakterilerinin başlıca fonksiyonu olan laktik asit üretiminin yanı sıra, bakteriyosin üretimi, ekzopolisakkarit üretimi, konjuge linoleik asit üretimi ve duysal özellikleri iyileştirme gibi bir takım diğer fonksiyonlar ile de fermente gıdaların üretimlerine katkı sağladığı anlaşılmıştır (Mäyrä-Mäkinen ve Bigret, 1998; Crow vd., 2001; Leroy vd., 2006; de Vuyst ve Leroy, 2007; Colakoglu ve Gursoy, 2011; Martinez vd., 2015).

Laktik asit bakterileri, olgunlaşan peynirin mikrobiyal florasını domine eden mikroorganizmalardır. Peynir mikroflorasındaki LAB, üretim sırasında ilave edilen starter kültürler ve/veya destek kültürler ile starter olmayan LAB'lerden oluşmaktadır (Urbach, 1995). Peynir üretiminden hemen sonra starter kültür sayısı genel olarak  $10^9$  kob/g seviyesinin üstüne çıkmaktadır. Mikroorganizma gelişmesi için sınırlayıcı faktörler içeren peynir olgunlaşma ortamı (kalıntı laktozun azalması,  $\text{pH}=5,0-5,3$ , %4-6 yaş bazda tuz konsantrasyonu, 5-13°C olgunlaşma sıcaklığı), başlangıç mikrobiyal yükünde azalmaya neden olmaktadır (Steele vd., 2013). Ölmekte olan starter kültürlerin bazıları otolize uğrayarak hücre içi enzimleri ve hücresel bileşenleri peynir matrisine salıverilmektedir

(Lortal ve Chapot-Chartier, 2005). Olgunlaştırılmış peynirlerde, starter bakterilerin lize olma ve enzimlerini peynir matrisi içerisine serbest bırakma hızları, serbest aminoasitlerin oluşma hızı ve dolayısıyla peynir lezzeti gelişimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Urbach, 1995).

Starter kültür kullanımının yanı sıra destek kültür kullanımı da peynirlerde lezzet bileşiklerinin etkili ve daha kısa sürede oluşumunu sağlayabilmekte ve olgunlaşmanın hızlandırılmasına katkıda bulunabilmektedir (El-Soda ve Awad, 2011). Peynir olgunlaşmasında etkili olan hücre içi enzimlerin otoliz ile peynir matrisi içerisine saliverilmesi hızlandırılmış olgunlaştırmada önemli olan faktörlerden birisidir (Kawabata vd., 1997). Bundan dolayı peynir endüstrisinde kullanılacak mikrobiyal kültürlerin otolitik aktivitelerinin önceden bilinmesi son derece önemlidir.

## **2.2. Bakterilerde Hücre Duvarı Yapısı ve Otoliz**

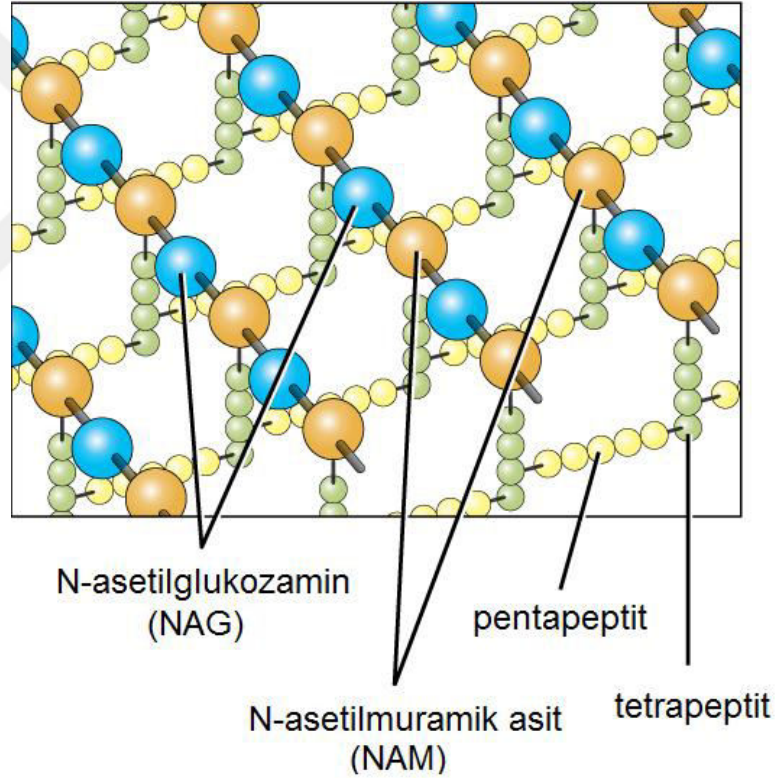
Hücre duvarı, hücre protoplastını mekanik hasardan ve ozmotik parçalanma veya lizisten koruyan önemli bir yapıdır. Membran hassas, plastik bir yapı olduğundan, yüksek gerilme mukavemeti olan gözenekli, sert malzemeden yapılmış bir dış duvarla sınırlandırılmalıdır (Todar, 2018). Bakteriyel hücre duvarının yapısal bileşeni peptidoglikandır. Peptidoglikan, tarihsel olarak aynı zamanda murein veya murein kesesi olarak da adlandırılan ağ benzeri makromoleküler yapıyı oluşturan, kısa zincirli peptidler ile birbirine bağlanan glikan zincirlerinin ağ benzeri bir polimeridir (Çökmüş, 2010; Todar, 2018). Bakteriyel peptidoglikanlar, mureinin kesin bileşeni olan N-asetilmuramik asit içermektedir (Todar, 2018).

Peptidoglikan yapısı bakterilerde hücre bütünlüğünün ve şeklinin korunması yanında hücre içi turgor basıncının dengelenmesinin sağlanması açısından da önemlidir. Peptidoglikan yapısı hücre gelişimi ve bölünmesi sırasında hücreye elastik özellik kazandırmaktadır. Peptidoglikan sentez ve yıkım enzimlerinin hassas bir koordinasyon içerisinde çalışması ile söz konusu fonksiyonların sağlanması mümkündür. Yıkım ve sentez enzimleri arasındaki dengenin bozulması durumunda hücre gelişiminin durması veya hücrenin lize olması sözkonusudur (Shockman vd., 1996). Gram-pozitif bakterilerde hücre duvarının %90'ı peptidoglikandan oluşmaktadır ve peptidoglikan üst üste yığılmış yaklaşık 25 tabaka içermektedir (Çökmüş, 2010).

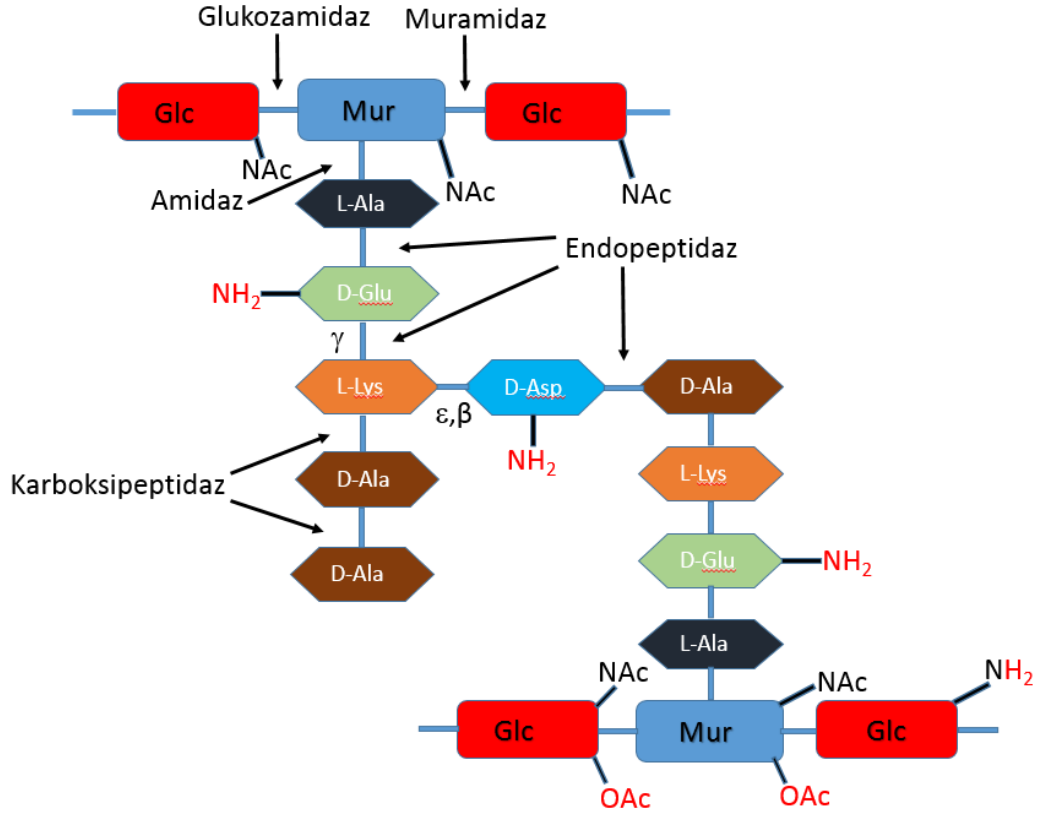
Peptidoglikan,  $\beta$ -1,4 bağları ile bağlanan dönüşümlü N-asetilglukozamin (NAG) ve N-asetilmuramik asitten (NAM) oluşan glikan zincirlerinden meydana gelmektedir. Peptid zincirleri, N-terminallerinden NAM'ın laktik grubuna kovalent olarak bağlanmaktadır. Bu



peptidik zincirlerin kompozisyonu türler arasında değişiklik göstermektedir. Peptit zincirleri doğrudan veya dolaylı olarak çapraz bağlanabilmektedir. Bu yapılanma hücrenin çevresinde bakteriyel bütünlüğü sağlayan üç boyutlu yapının oluşmasını sağlamaktadır. LAB'de, gövdeyi oluşturan peptidin aminoasit dizisi, L-Alanin- $\gamma$ -D-Glutamik asit-X-D-Alanin'den oluşurken, üçüncü aminoasit (X), bir di-aminoasittir. Bu aminoasit çoğu zaman L-lisin olmakla birlikte mezodiaminopimelik asit (mDAP) veya L-ornitin de olabilmektedir (Chapot-Chartier ve Kulakauskas, 2014). Gram-pozitif bakterilerde hücre duvarı peptidoglikanının yapısı şematik olarak Şekil 2.1 ve peptidoglikan yapısını hidroliz eden hidrolaz enzimleri ile spesifik kesim bölgeleri Şekil 2.2'de gösterilmektedir. Peptidoglikanın temel yapısı bütün bakterilerde aynı olmasına karşın, çapraz bağlar ve tetrapeptit yan zincirleri türler arasında farklılık gösterebilmektedir.



**Şekil 2.1.** Bakterilerde hücre duvarı peptidoglikanının yapısı (Anonim, 2018'den uyarlanmıştır)



**Şekil 2.2.** Peptidoglikan yapısını hidroliz eden hidrolaz enzimleri ile spesifik kesim bölgeleri (Chapot-Chartier ve Kulakauskas, 2014'den uyarlanmıştır)

Tüm bakteriler “otolisinler” olarak adlandırılan çok sayıda litik enzimlere sahiptir. Otolisinler olarak adlandırılan hücre içi peptidoglikan hidrolazları tarafından hücre duvarı peptidoglikanının enzimatik parçalanmasıyla meydana gelen (Ouzari vd., 2002; Lortal ve Chapot-Chartier, 2005) olay “otoliz” olarak tanımlanmaktadır. Kompleks bir olay olan otoliz, sitoplazmik içeriğin hücrenin bulunduğu ortama salıverilmesi ile sonuçlanmaktadır (Husson-Kao vd., 2000).

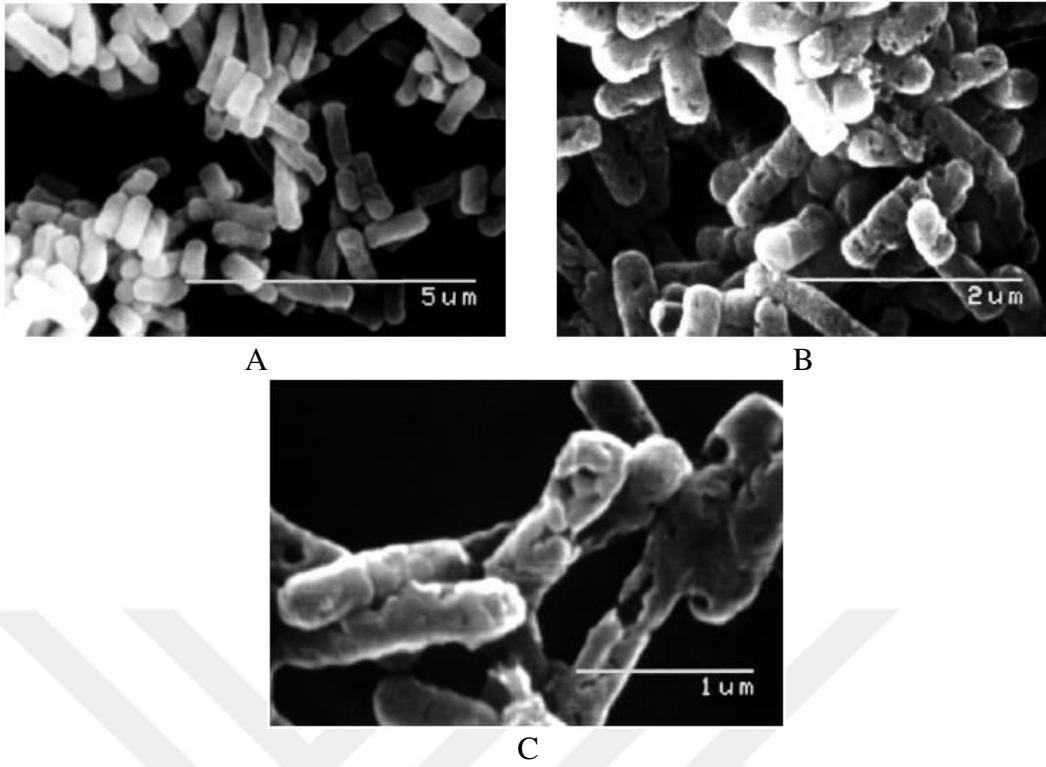
Peptidoglikan hidrolazları, bakteriyel hücre duvarında peptidoglikan yapısındaki spesifik bağları hidrolize edebilen enzimlerdir. Bunlar arasında bakteriyel otolisinler ve faj endolisinleri bulunur. Otolisinler, özellikle hücreler stresli koşullar yaşadığında (örneğin besin ögesi yetersizliği ya da diğer istenmeyen çevresel koşulları), aktiviteleri hücrelerin otolizine yol açabilen endojen bakteriyel peptidoglikan hidrolazlarıdır (Lortal ve Chapot-Chartier, 2005; Chapot-Chartier ve Kulakauskas, 2014). Bunun yanında söz konusu enzimlerin faaliyetleriyle gerçekleşen peptidoglikan iplikçiklerinin parçalanması, bakteriyel hücre çoğalması sırasında yeni sentezlenmiş peptidoglikan alt birimlerinin yapıya yerleştirilmesi ve hücre bölünmesini takiben hücrelerin ayrılması için gereklidir

(Chapot-Chartier ve Kulakauskas, 2014). Hücrenin “otolitik sistemini” oluşturan (Lemée vd., 1995) ve otolizinde rol oynayan bazı enzimler ve fonksiyonları Tablo 2.2’de verilmektedir (Østlie vd., 1995; Ouzari vd., 2002). Farklı bakterilerin otolitik sistemlerinde bir veya daha fazla enzimin görev aldığı farklı kaynaklarda belirtilmektedir (Coyette ve Ghuysen, 1970; Østlie vd., 1995; Lemée vd., 1994; Cibik ve Chapot-Chartier, 2000). Örneğin N-asetilmuramidaz’ın *L. acidophilus* ve *L. helveticus*’un otolitik sisteminde rol oynadığı ancak *L. fermentum*’un otolitik sisteminde N-asetilmuramidaz’ın yanı sıra amidaz ve endopeptidaz’ın da görev aldığı belirlenmiştir (Lortal vd., 1997).

**Tablo 2.2.** Hücrenin otolizinde rol oynayan bazı enzimler ve fonksiyonları (Østlie vd., 1995; Ouzari vd., 2002)

Otolitik Enzim	Fonksiyonu
N-asetilmuramidazlar	N-asetilmuramik asitin serbest indirgeyici gruplarını serbest bırakır.
N-asetilglukozaminidazlar	N-asetilglukozaminin serbest indirgeyici gruplarını serbest bırakır.
N-asetilmuramil-L-alanin amidaz	N-asetilmuramik asit ve L-alanin arasındaki bağı parçalar.
Endopeptidazlar	Ana peptitler ve peptit bağlarını hidrolize eder.

Peptidoglikan hidrolazları arasında yer alan ve özellikle hücrenin çoğalma evresinde aktif olan N-asetilmuramidazlar hücre duvarı polisakaritlerine etki ederek küçük moleküllerin hücre içerisine girmesini bu yolla da yeni hücrelerin oluşumunu sağlamaktadırlar. Hidrolazlar yoluyla hücre duvarında meydana gelen yarıma ve delinmeler gibi yapısal bozulmalar genel hücre yapısına zarar vermemekte ve sadece hidrolitik enzimlerin bulunduğu birkaç yerde görülmektedir. Otolizin ilk evresinde hücre duvarında meydana gelen küçük çatlaklar otolizin sonraki aşamalarında büyüyerek büyük çatlaklar haline gelmekte ve hücre kendine özgü görüntüsünü kaybetmektedir. Otoliz farklı sırasında kaydedilen hücre duvarı görüntüleri Şekil 2.3’te verilmektedir (Zambonelli vd., 2002).



**Şekil 2.3.** *Lactobacillus brevis*'in otolizi sırasında 3 (A), 30 (B) ve 60 (C) gün süreyle MRS sıvı besiyerindeki hücre morfolojisi görüntüleri (A: x10 000 büyütme, B: x20 000 büyütme, C: x 30 000 büyütme) (Zambonelli vd., 2002).

Laktik asit bakterilerinde otolitik aktivitenin peptidoglikan yapısındaki farklılıklar, genom yapısındaki hatalar, bölünme sırasında peptidoglikan yapısında oluşan farklılıklar, genetik yapının çeşitliliği ve çevre koşullarına (karbon kaynağı, sıcaklık, tuz konsantrasyonu, büyüme fazı ve pH gibi) bağlıdır (Şimşek vd., 2016). Çevre koşulları otolitik enzimlerin aktivitelerini doğrudan ya da dolaylı olarak (substratlar) etkileyebilmektedir. (Lortal vd., 1997).

Bakterilerde aynı çevresel koşullardaki otolitik aktivitenin suşa bağlı olarak değiştiği birçok farklı çalışmada gösterilmiştir (Boutrou vd., 1998; Husson-Kao vd., 2000; Ouzari vd., 2002; El-Soda vd., 2003; Kozakova vd., 2010; Nájera-Domínguez ve Gutiérrez-Méndez, 2013). Husson-Kao vd. (2000) *Streptococcus thermophilus* suşlarının ve Ouzari vd. (2002) *Lactococcus lactis* suşlarının otoliz derecelerinin suşa bağlı olarak değiştiğini rapor etmiştir. *Lactobacillus pentosus* suşlarının otolitik davranışlarının suşa bağlı olarak değiştiği Cibik ve Chapot-Chartier (2004) tarafından rapor edilmiştir. Benzer şekilde Lemée vd. (1994) süt ve süt ürünlerinden izole edilen 57 propiyonik asit bakterisinin otolitik özelliklerini 0,1 M potasyum fosfat tamponunda (pH 6,2)

karşılaştırmış ve otolitik özelliğin suşa bağlı olarak değiştiğini bildirmiştir. Otolitik aktivitenin suşa bağlı olduğu bulgusu 59 farklı *Leuconostoc* suşunun potasyum fosfat tamponunda (50 mmol/L, pH=6,5, 30°C, 24 saat inkübasyon) otolitik aktivitesinin araştırıldığı çalışmada da elde edilmiş ve suşlarının otoliz oranlarının %7 ila %44 arasında değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Farklı çevresel koşulların laktik asit bakterinde hücre otolizine etkisinin belirlenmesi amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde sıcaklık ve büyüme fazının *Lactobacillus acidophilus* CRL 640'ın otolitik aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir (Murga vd., 1995). En yüksek otolitik aktivite 45°C'de (%48 hücre lizisi) belirlenmiş iken aynı sıcaklıkta, otolitik aktivite için (lizis) iki pik tespit edilmiştir. Birincisi büyümenin erken üstel fazında tespit edilirken ikinci lizis piki üssel fazdan durağan faza geçiş aşamasında belirlenmiştir.

En yüksek otolitik aktivitenin bakteri büyümesinin erken üstel fazında tespit edildiği benzer bir çalışma Kang vd. (1998) tarafından *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactobacillus casei* spp.'nin farklı sıcaklık, pH, NaCl konsantrasyonu ve büyüme fazının bakteri otolizine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada yüksek hücre lizisi 0,2 M NaCl ortamında gözlenmiştir. En yüksek otoliz oranı *Lb. bulgaricus* UL12'de %78 olarak belirlenmiştir. Elektron mikroskobu çalışmalarında, en yüksek otolitik aktivite erken üssel büyüme fazındaki hücrelerde belirlenmiştir. Aynı çalışmada hücre duvarındaki yapısal bozulmanın hücre otolizi ile eşzamanlı olarak meydana geldiği de tespit edilmiştir.

Konu ile ilgili başka bir çalışmada *L. acidophilus*, *L. helveticus* and *L. casei* suşlarının otolizini teşvik eden koşullar belirlenmeye çalışılmıştır (Ohmiya ve Sato, 1975). Çalışma sonucunda üssel büyüme fazındaki hücrelerin daha yüksek otolitik özelliğe sahip olduğu belirlenirken, suşların -20°C'de iki gün ya da daha fazla bekletilmesinin otolizi önemli düzeyde teşvik edebileceği vurgulanmıştır. Ortamda Ca<sup>2+</sup> veya Mg<sup>2+</sup> iyonlarının bulunmasının otolitik aktiviteyi teşvik ettiği de rapor edilmiştir.

Østlie vd. (1995) tarafından yapılan çalışmada 21 propiyonik asit bakterisi suşunun otolitik davranışları potasyum fosfat tamponunda (50mM, pH 7,0) belirlenmiş ve suşların otoliz oranlarının %20 ila %80 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek otoliz oranlarının daha önceki çalışmalara benzer şekilde üssel çoğalma fazında ve 30-40°C sıcaklıklarında görüldüğü tespit edilmiştir. Çalışmada Ohmiya ve Sato (1975)'nin bulgularından farklı olarak tek değerli katyonların (by Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) otolizi teşvik

ettiği, çift değerli katyonların ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  ve  $\text{Co}^{2+}$ ) ise otolizi inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Riepe vd. (1997) yüksek otolitik aktivite gösteren iki *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* suşunun (CO ve 2250) otolitik aktiviteleri üzerine farklı karbonhidrat kaynaklarının etkisini incelemiştir. Her iki suşun, karbonhidrat kaynağı olarak % 0,4 ila 0,5 glukoz içeren M17 besiyerinde çoğaltıldığında en yüksek lizis gösterdiği ancak artan glukoz konsantrasyonunun (%1) ile hücre lizisini sınırlandığı tespit edilmiştir. Çalışmada lizisin, pH veya sıcaklık ile büyük ölçüde değişmediği, ancak besiyerinde karbon kaynağı olarak laktoz veya galaktoz kullanıldığında lizisin azaldığı görülmüştür. Tampon sisteminde maksimum hücre lizisi erken durağan fazda gözlemlenmişken, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CO için, log fazı ve durağan fazdaki hücreler için iki optimum lizis pH'sı sırasıyla 6,5 ve 8,5 olarak belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada *L. delbrueckii* subsp. *lactis* FAM-10991'in 37°C'de, pH 5,5'de, farklı tuz konsantrasyonlarında (%0, 1, 1,5, 2,5 ve 3,5) otolitik aktivesi incelenmiştir (Koch vd., 2007). Otolitik aktivitenin tuz konsantrasyonu artışıyla yükseldiği tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonunun %0-1,5 aralığındaki değişimi otoliz oranını istatistiksel olarak etkilememiştir. Otoliz oranının %2,5 ve %3,5 tuz konsantrasyonlarında istatistiksel olarak birbirine benzer ve sırasıyla %38,6 ve %48,6 olduğu tespit edilmiştir.

Otoliz oranı üzerine pH ve tuz konsantrasyonunun etkilerinin incelendiği bir çalışmada (Ramirez-Nunez vd., 2011), *Lactococcus lactis* suşlarının otolitik özelliklerinin suşlar arasında önemli farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan *Lactococcus lactis* RQ07 ve EZ03B'nin pH 5,4'de en yüksek otoliz oranlarına Koch vd. (2007)'nin bulgularına benzer şekilde yüksek tuz konsantrasyonlarında ulaşıldığı tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonunun artışıyla otoliz oranı artışı *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* CNRZ 1772 and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CNRZ 1470 suşlarında potasyum fosfat tamponunda (50 mM, pH 6.5) 100, 200 ve 300 mM NaCl konsantrasyonlarında yapılan çalışmada da rapor edilmiştir (Çıbık, 2010). Bu bulgularla zıt olarak çalışmada kullanılan *Lactococcus lactis* BB07, CZ01, MA101, KK01 ve EJ06 suşlarının en yüksek otoliz oranları pH 5,4 ve düşük tuz konsantrasyonlarında belirlenmiştir.

Otolitik aktivite üzerine pH (5 ve 7) ve tuz konsantrasyonlarının (% 1, 2 ve 3) etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada çiğ süttten yapılan süt ürünleri, sebzeler ve farklı ticari starter kültürlerden izole edilen 20 farklı *Lactococcus lactis* suşu ile çalışılmıştır (Nájera-Domínguez ve Gutiérrez-Méndez, 2013). *L. lactis* suşlarının otolitik

davranışlarının suşa bağlı olarak değiştiği gözlenen çalışmada elde edilen en yüksek otoliz oranları pH 5 ve %1 NaCl ve pH 7 ve %5 NaCl içeren ortamlarda elde edilmiştir. Çalışma sonucunda genel olarak çiğ süttten yapılan peynirlerden ve sebzelerden izole edilen suşların düşük ve orta düzeyde otolitik aktiviteye sahip olduğu, ticari kültürlerden izole edilen suşların ise yüksek otolitik aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.

Çıbık (2010) tarafından yapılan çalışmada *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* CNRZ 1772 and *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* CNRZ 1470'nin otolitik aktivitesi üzerine büyüme fazının, inkübasyon sıcaklığının ve pH'nın etkisi incelenmiştir. Çalışmada en yüksek otolitik aktivite erken üstel fazda hasat edilmiş hücrelerde belirlenmiştir. Erken üstel fazda hasat edilmiş hücrelerin otolizi üzerinde sıcaklığın etkisi potasyum fosfat tamponunda 7, 12, 20, 30, 42 ve 50 °C'de belirlenmiştir. Otolitik aktivite için en uygun inkübasyon sıcaklığı leukonostok suşlarının optimal çoğalma sıcaklığı olan 30°C olarak tespit edilmiştir. Araştırmacı 42 ve 50°C'de otoliz oranının inkübasyonun ilk saatlerinde yüksek olduğunu ancak bu oranın ilerleyen saatlerde muhtemelen otolitik enzimlerin denatürasyonuna bağlı olarak büyük ölçüde azaldığını rapor etmiştir. Otoliz oranının 7 ve 12°C sıcaklıklarda yapılan inkübasyon periyodu boyunca oldukça düşük olduğu da bildirilmiştir. Aynı çalışmada asidik ve bazik ortamlarda otolitik aktivitenin azaldığı gözlenirken optimal aktivite için gerekli pH ortamının 6 ile 7 değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir.

*Lactobacillus helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum* ve *Lb. brevis* suşlarının farklı sıcaklık, NaCl konsantrasyonu ve pH koşullarındaki otolitik özellikleri El-Kholy vd. (1998) tarafından yapılan çalışmada araştırılmıştır. Araştırmacılar çalışılan bakterilerin optimum çoğalma sıcaklıkları, pH 5,5-6,5 aralığı, 0,5-1,0 M NaCl konsantrasyonları ile dondurma ve çözündürme işlemlerinin hücre otolizi için en iyi koşullar olduğunu tespit etmişlerdir.

Masuda vd. (2005) *L. acidophilus* ve *L. gasseri* suşlarının asidik ortamda (pH=5) nötr ortama göre daha yüksek otolitik aktivite gösterdiğini belirlemiş ve genel olarak *L. gasseri* suşlarının otolitik eğilimlerinin *L. acidophilus* suşlarından daha fazla olduğunu tespit etmiştir.

### **2.3. Kaşar Peynirinin Tanımı ve Bazı Özellikleri**

Kaşar Peyniri, Türklerin Anadolu'ya gelişinden sonra yapmayı öğrendikleri peynirlerden biridir (Kamber, 2008). Kaşar peyniri beyaz peynirden sonra Türkiye'de en yaygın ve ticari olarak üretilen peynirdir. Yılda yaklaşık 80 bin ton kaşar peyniri

üretildiği (Çakmakçı, 2011) ve ülkemizde üretilen peynirlerin yaklaşık %15-17'sini kaşar peynirinin oluşturduğu bildirilmektedir (Kamber, 2008)

Kaşar peyniri, Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde "hammadenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin tekniğine uygun olarak işlenmesi ile üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen ve çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren telemesi haşlanan peynir" olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2015). Yine aynı tebliğde kaşar peyniri telemesi haşlanan peynirler içerisinde gruplandırılmakta ve üretiminde emülsifiye edici tuz kullanımı yasaklanmaktadır.

Kaşar peyniri, telemesi haşlanan ve telemesi yoğurularak şekillendirilen, deliksiz, dilimlenebilir yarı sert/sert bir peynir çeşididir (Üçüncü, 2004, Çakmakçı, 2011). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde taze ve olgunlaştırılmış kaşar peynirlerinde bulunması gereken en az kurumadde değerleri sırasıyla %55 ve %60 olmasına izin verilmektedir (Anonim, 2015). Geleneksel olarak koyun sütünden yapılan kaşar peyniri, günümüzde endüstriyel olarak inek sütü, koyun sütü ve farklı tip (inek, koyun, keçi) sütlerin karışımı kullanılarak da üretilebilmektedir. Yapımı ve bileşimi yönünden bazı İtalyan (Caciocavallo, Provolone, Mozzarella) (Kamber, 2008) ve Balkan ülkeleri (Kaşkaval, Kasserli) peynirlerine (Tarakci ve Kucukoner, 2006) benzerlik göstermektedir. Kaşar peyniri çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilebildiği gibi pastörize süttten starter kültür kullanılarak da üretilebilmektedir. Kaşar peynirinin randımanı inek sütünden yapıldığı durumda yaklaşık %9-10 ve koyun sütünden yapıldığı durmunda %16-18 olarak değişebilmektedir (Çakmakçı, 2011).

Kaşar peyniri üretiminden sonra taze olarak satılabildiği gibi (taze kaşar) 3-6 ay boyunca olgunlaştırılarak kabuk oluşması ve olgunlaşması sağlandıktan sonra da pazarlanabilmektedir (Kamber, 2008). Kaşar peynirinin olgunlaştırılmış peynir olarak pazarlanabilmesi için en az 90 gün süreyle olgunlaştırılması zorunludur (Anonim, 2015). Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde en az 120 gün süre ile olgunlaştırılarak üretilen kaşar peynirlerinde "eski" ifadesi kullanılabilmesine bir diğer ifade ile peynirin "eski kaşar" peyniri olarak pazarlanmasına izin verilmektedir (Anonim, 2015). Kaşar peyniri uygun koşullarda 2-3 yıl saklanabilmektedir (Kamber, 2008).

#### **2.4. Peynir Teknolojisinde Otolizin Önemi**

Peynir olgunlaşması aşamalı olarak karbonhidrat, yağ ve proteinlerin parçalanmasını içeren oldukça karmaşık bir süreçtir. Olgunlaşma sırasında meydana gelen



değişiklikler başlıca iki kısımda incelenebilir. Olgunlaşma esnasındaki birincil değişiklikler kazeinlerden peptitler ve aminoasitlerin oluşumu, süt yağından yağ asitlerinin oluşumu, laktozun laktik aside veya karbondioksit, etanol ve asetik asit gibi diğer fermantasyon ürünlerine dönüşümüdür. İkincil değişiklikler ise birinci aşamada meydana gelen son ürünlerin dönüşümünü kapsamaktadır. Aminoasitlerden aminler, organik asitler, sülfür bileşikleri ve karbondioksidin oluşumu ile yağ asitlerinden ketonlar, laktonlar, aldehitler ve ikincil alkollerin oluşumu ikincil değişikliklere örnek olarak verilebilir (El-Soda, 1993). Peynirlerin kendine özgü karakteristik özelliklerinin (görünüş, lezzet, doku vb.) oluşumunu sağlayan peynir olgunlaşması farklı peynir tiplerinde 1 ay (Gouda) ila 28 ay (Parmigiano Reggiano) arasında değişim gösterebilmektedir (El-Soda ve Awad, 2011).

Tam olarak kontrol edilemeyen bir süreç olan peynir olgunlaşması, olgunlaşma sıcaklığı ve nem kontrolü, starter ve/veya destek kültür ilavesi ile enzim ilavesi gibi uygulamalarla kısmen kontrol edilebilmektedir (Olson, 1990).

Birçok peynir çeşidi için olgunlaşma zaman alıcı ve dolayısıyla pahalı bir süreçtir. El-Soda ve Awad (2011) Cheddar peynirinin maliyetinin olgunlaşma süresince %1,5-3/ay oranında arttığını rapor etmişlerdir. Zaman alıcı ve maliyetli bir süreç olan olgunlaşmanın hızlandırılması günümüze kadar çok sayıda araştırmanın konusu olmuştur. Fox vd. (1996) peynir olgunlaşmasında kullanılan metotları (i) yüksek olgunlaşma sıcaklığı, (ii) eksojen enzimler (rennet, plazmin ve diğer proteolitik enzimler, lipazlar), (iii) kimyasal ya da fiziksel olarak modifiye edilmiş bakteri hücreleri, (iv) genetik modifiye starterler, (v) destek kültürler ve (vi) peynir bulamaçları olarak 6 grupta kategorize etmiştir.

Olgunlaşma sırasında gerçekleşen ve birçok peynir çeşidi için en önemli biyokimyasal reaksiyon olarak öne çıkan proteoliz rennet, süt, starter bakteriler, starter olmayan mikroflora ve destek kültürlerden kaynaklı enzimler tarafından katalize edilmektedir (McSweeney, 2011). Peynir olgunlaşmasında rol alan bakteriyel enzimler bakteri hücreleri içerisinde lokalize olduğundan, söz konusu enzimlerin hücrenin erken otolizi ile peynir pıhtısı içerisine salıverilmesinin olgunlaşmanın hızlanmasına katkı yapacağı beklenmektedir (Bourdat-Deschamps vd., 2004). Peynir teknolojisinde kullanılan starter bakterilerin erken otolizinin peynirde lezzet gelişimine pozitif katkılar yaptığı ve olgunlaşmayı hızlandırdığı yapılan birçok çalışmada tespit edilmiştir (Crown vd., 1995; Valence vd., 2000; Deutsch vd., 2003; Bourdat-Deschamps vd., 2004; Hannon vd., 2007).

Peynir matriksindeki laktik asit bakterilerinin otolizine bağlı olarak hücre içi enzimlerin hızla salınmasının peynir olgunlaşmasını hızlandıracağı hipotezinin test edilmesi için yapılan çalışmaların birinde farklı otolitik aktiviteye sahip bakterileri içeren

starter kültürler Cheddar peyniri üretiminde kullanılmıştır (Hannon vd., 2003). Starter kültür sistemi A'da, düşük otolitik aktiviteye sahip olan iki *Lactococcus lactis* suşunun (223 ve 227) karışımı kullanılırken, B starter kültür sisteminde, A'daki iki *Lactococcus lactis* suşunun yanı sıra oldukça yüksek bir otolitik aktiviteye sahip olan *Lactobacillus helveticus* DPC4571 suşu kullanılmıştır. Sistem C'de ise starter olarak sadece *L. helveticus* DPC4571 suşu kullanılmıştır. Çalışma sonucunda B ve C kültür sistemlerinin kullanıldığı peynirlerde proteolizin A kültürünün kullandığı peynire göre daha yüksek olduğu belirlenmiş ve B ve C kültürleriyle üretilen peynirlerde olgunlaşmanın hızlandığı rapor edilmiştir.

Aynı araştırma grubu tarafından aynı starter kültür sistemleriyle yapılan çalışmada farklı otolitik kültürlerin Cheddar peynirinde 8 ay olgunlaşma süresince peynirde serbest yağ asitleri üzerine etkisi araştırılmıştır (Hannon vd., 2007). Çalışmada B ve C starter kültürleriyle üretilen peynirlerde C4:0, C10:0, C14:0, C16:0 and C18:1 yağ asitlerinin 8 ay olgunlaşma süresince A starter kültür sistemiyle üretilen peynirden daha fazla arttığı belirlenmiş ve starter kültür lizisinin Cheddar peynirlerinde lipoliz gelişimi üzerindeki etkisi gösterilmiştir.

Hannon vd. (2003; 2007)'nin bulgularına benzer şekilde peynirdeki starter kültürün lizis düzeyi ile Cheddar peynirinin kalitesi ve lezzet gelişimi oranı arasında pozitif bir ilişki olduğu O'Donovan vd. (1996) ile Law (2001) tarafından da bildirilmiştir.

Benzer şekilde Cheddar peyniri olgunlaşması sırasında starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin (mezofilik laktobasil ve *Lactobacillus helveticus* DPC 4571) otoliz olup olmadıklarının belirlenmesi için yapılan bir çalışmada (Kiernan vd., 2000) otolitik bir suş olan *Lactobacillus helveticus* DPC 4571 ile üretilen peynirlerde ilgili bakterinin hücre içi enzimlerinin otoliz ile peynir matriksine salınımının proteolizi etkilediği, peynir lezzetini olumlu yönde etkilediği ve olgunlaşmayı hızlandırdığı sonuçlarına varılmıştır.

Yapılan çalışmalarda starter ve/veya destek kültür lizisinin peynirde serbest aminoasit konsantrasyonunda artışına yol açarak acılığın azalmasını sağladığı ortaya konmuştur. Bu nedenle peynir üretiminde kullanılacak olan yüksek otolitik aktiviteye sahip suşların seçimiyle yalnızca peynir lezzeti gelişiminin hızlandırılması değil aynı zamanda peynirin duyuşal özelliklerinin de olumlu yönde iyileştirilmesi sağlanmış olacaktır (Hannon vd., 2003; 2007; Kenny vd., 2006). Konu ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalar ve peynirlerde otolizin izlenmesi ile ilgili yöntemler Şimşek vd. (2016) tarafından derlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Otolitik Laktik Asit Bakterisi

Bu çalışmada Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) tarafından desteklenen TAGEM/13/AR-GE/11 nolu araştırma projesi kapsamında izole edilip tanımlanan otolitik özellikleri iyi olan laktik asit bakterileri arasından seçilen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (PFC233, 17M20, otoliz oranı %44,3) kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanılmıştır.

#### 3.2. Kültür Aktivasyonu

İzole edildikten sonra dondurularak kurutulmuş (freeze-dried) formda depolanan kültürler peynir üretiminde kullanılmadan önce aseptik şartlarda uygun besiyerine aktarılarak ve 30°C’de bir gece inkübasyona bırakılarak çoğaltılmış ve en az iki defa aktive edilmiştir. Aktivasyon işleminin ardından kültürler %12 kurumaddeli (ağırlık/hacim) yağsız süt tozundan hazırlanan sterilize süt içerisinde bir gece 37°C’de inkübasyona bırakılarak çoğaltılmış ve üretimde kullanılmıştır. Peynir üretiminde kullanılmadan önce fermente sütlerin mililitresindeki bakteri sayıları belirlenmiştir.

#### 3.3. *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*’in Kaşar Peyniri Üretiminde Destek Kültür Olarak Kullanımı

*Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*’in destek kültür olarak kullanıldığı kaşar peyniri örneklerinin üretimi Denizli’de bulunan bir süt işletmesinde gerçekleştirilmiştir. Kaşar peyniri üretimi için kullanılan çiğ inek sütü 2 kısma bölünmüştür. Birinci kısım (15000 L) kontrol grubu peynirlerin üretiminde kullanılırken ikinci kısım (3000 L) ise *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*’in destek kültür olarak kullanıldığı peynirlerin üretiminde kullanılmıştır. Destek kültür konularak kaşar peyniri üretiminde starter kültürün yanında *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris* 10<sup>7</sup> kob/mL olacak şekilde süte ilave edilmiştir. Üretimde kullanılan çiğ inek sütü plakalı ısı değiştiricide 72°C’de 15 saniye ısı işleme maruz bırakıldıktan sonra 34°C’ye soğutulmuştur. Soğutulan süte %0,008 oranında 32 Bome CaCl (Caso®, Solvay, İtalya) ilave edilmiştir. Ardından süte kontrol grubu için starter kültür (*Lactobacillus helveticus*, Chr. Hansen Gıda Sanayi ve Tic. A.Ş., İstanbul), deneme üretimi için ise starter kültüre ilave olarak *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris* (PFC233) ilave edilmiştir. Kültür ilavesinden sonra 15 dakika karıştırılıp mayalama tankında bekletilen süte ardından %0,0075 oranında peynir mayası (mikrobiyal rennet)

ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. 50 dakikalık mayalama süresi sonunda pıhtı kırma işlemi gerçekleştirilmiş ve ardından pıhtı sıklığının sağlanması ve asitlik artışını sağlamak için mayalama tankında yaklaşık 50 dakika bekletilerek sıcaklığı 39°C'ye yükseltilmiştir. Ardından peynir altı suyu uzaklaştırılmış ve pıhtı pH'sı 5,3'e geldiğinde teleme haşlamaya geçilmiştir. Telemeye %1 tuz ilave edilerek 72°C'de (hamur iç sıcaklığı) 5 dakika süre ile haşlanmış, ardından gramajlama ve kalıplama yapılmıştır. Kalıplamanın ardından kaşar peynirleri 10-12°C'de 16 saat süre kurutma odasında bekletilmiş ve kalıplardan çıkarılarak düşük yoğunluklu polietilen film ile vakum altında paketlenmiştir. Kurutma işleminin ardından peynirler vakum ambalajlanmış ve 8±1°C'de 90 gün depolanmıştır. Depolamanın 1, 30, 60 ve 90. günlerinde tesadüfi olarak seçilen peynirlerin fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analizleri yapılmıştır.

### **3.4. Peynire İşlenecek Sütte Yapılan Analizler**

Peynire işlenecek sütte kurumadde, yağ, laktoz ve protein değerleri süt analizatöründe (Bentley B150, Bentley Instruments Inc., ABD) Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Asitlik değerlerinin tespiti TS 1018'e göre (Anonim, 1981) belirlenmiş olup pH değerleri pH metre (Mettler Toledo, Seven Compact pH/Ion S220, İsviçre) ile tespit edilmiştir.

### **3.5. Peynir Örnekleri İçin Kimyasal Analiz Metotları**

Örneklerin kurumadde, asitlik ve tuz miktarları TS 3272 Kaşar Peyniri Standardı'nda belirtilen metotlar ile belirlenmiştir. pH tayini pH metre (Jenco 6173, Jenco, San Diego, CA, ABD) ile kombine elektrot kullanılarak yapılmıştır. Yağ miktarları Gerber metodu ile belirlenirken suda çözünen azot (WSN) ve protein miktarları ise Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan Dumatherm Analyser (Gerhardt GmbH & Co. KG, Königswinter, Almanya) cihazı kullanılarak Dumas metodu ile belirlenmiştir. Olgunlaşma derecesi; suda çözünen azot toplam azota oranlanarak hesaplanmış ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Kurumaddede yağ ve kurumaddede tuz miktarları matematiksel hesaplama yolu ile bulunmuştur.

Peynirlerin proteoliz seviyesinin belirlenmesi depolamanın 1, 30, 60 ve 90. günlerinde suda çözünen azot tayini ile gerçekleştirilmiştir. pH 4,6'da suda çözünen

fraksiyonun hazırlanmasında Kuchroo ve Fox (1982) tarafından belirtilen yöntemin Hayaloğlu vd. (2004) tarafından modifiye edilen şekli kullanılmıştır. Bu amaçla rendelenmiş peynir örneğinden 20 g alınmış ve üzerine 40 mL saf su ilave edilerek stomacher ile 5 dakika homojenize edilmiştir. Homojenizatın pH'sı 1 M HCl ile 4,6'ya ayarlanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda homojenizatın pH'sı tekrar kontrol edilerek gerekli ise pH tekrar 4,6'ya ayarlanmıştır. 4,6 pH'daki son homojenizat 40°C'de 1 saat bekletilmiş ve ardından 3000×g'de 30 dakika süre ile +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki yağ tabakası bir spatül ile uzaklaştırıldıktan sonra sıvı kısım (süpernatant) filtre kağıdı ile filtre edildikten sonra liyofilize edilmiş ve liyofilizat suda çözünen azot analizi için -20°C'de saklanmıştır.

### 3.6. Toplam Serbest Yağ Asitleri Değerinin Belirlenmesi

Toplam serbest yağ asitleri değeri yağ ekstraksiyonu ve titrasyon yöntemi ile Renner (1993) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiş ve sonuçlar 100 g peynir yağındaki g oleik asit (%) cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla iyice rendelenmiş peynir örneği bir beher içerisinde yeterli miktarda Kieselgur (Fluka Chemie GmbH, Buchs, İsviçre) ile iyice ezilmiştir. Daha sonra karışım üzerine dietileter (Fluka Chemie GmbH, Buchs, İsviçre) ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Peynir parçacıkları ve kieselgur'un çözümlenmesi için karışım kaba filtre kağıdından geçirilmiştir. İşlem tüm yağın çözümlenmesini sağlamak amacıyla birkaç kez tekrarlanmış ve çözümlenmiş yağ karışımı silifli bir balon içerisinde toplanmıştır. Balon içerisinde toplanan dietileter-yağ karışımından, dietileter 45°C'de rotary evaporator (Heidolph, Almanya) yardımı ile vakum altında uzaklaştırılmıştır. Yağ içerisindeki kalıntı çözümlenmiş azot gazı ile tamamen uçurulduktan sonra, balondaki yağ bir erlen içerisinde tartılmıştır. Tartılan yağ üzerine 40 mL eter-alkol karışımı (1:1) ilave edilerek 0.1 N etil alkolde hazırlanmış KOH ile %1'lik fenolftalein eşliğinde titre edilmiştir. Toplam serbest yağ asitleri değeri aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmış ve sonuçlar % oleik asit cinsinden ifade edilmiştir.

$$\% \text{ Oleik asit (g/100g)} = 282 \times n \times F / E \times 100$$

n: Harcanan KOH (mL)

282: Oleik asidin molekül ağırlığı (g/mol)

F: 0,1 N KOH çözeltisinin faktörü

E: Tartılan yağ miktarı (g)

### 3.7. Serbest Yağ Asitleri Kompozisyonun Belirlenmesi

Peynirlerin serbest yağ asitleri belirlenmesi Renner (1993) tarafından önerilen ve yukarıda detaylı biçimde açıklanan yöntemle ekstrakte edilen yağlarda Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikle yağ asitlerinin metil esterleri Yılmaz ve Seçilmiş (2006a) tarafından önerilen metoda göre hazırlanmıştır. Yağ asitlerinin metil esterlerinin hazırlanmasında 1 mL 1,5 M metanolik HCl 200 µL ekstrakte yağ ile karıştırılmış ve 80°C'de 2 saat bekletilmiştir. Soğuyan karışım üzerine 0,5 mL su ilave edildikten sonra yağ asitlerinin metil esterleri 1mL hekzan ile ekstrakte edilmiştir.

Yağ asitleri kompozisyonu kuadropol kütle spektrometresi (MS) dedektörü (Agilent 5975 C, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ile entegre gaz kromatografisi (GC) cihazı (Agilent 78890A, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ile belirlenmiştir. GC-MS analizinde 70 eV iyonizasyon enerjisine sahip elektron iyonizasyon sistemi kullanılmıştır. Fragment iyonları 30-500 m/z kütle aralığında tarama modunda analiz edilmiştir. Analizde CP-SIL 88 fused silika kapiler kolon (100m x 0.25mm, 0.2 µm film kalınlığı; Chrompack, Midelburg, Hollanda) kullanılmıştır. Enjeksiyon 1 µL hacimde yapılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 240°C'ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyumdan yararlanılmış ve akış oranı 1 mL/dakika olarak düzenlenmiştir. Kolon fırın sıcaklığı 4 dakika için 60°C'ye, 60°C'den 175°C'ye 13°C/dakika sıcaklık artışı, 27 dakika 175°C'de bekleme, 175°C'den 215°C'ye 4°C/dakika sıcaklık artışı ve 5 dakika için 215°C'de bekleme, 215°C'den 240°C'ye dakikada 4°C sıcaklık artışı ve 15 dakika süresince 240°C'de bekleme olacak şekilde ayarlanmıştır. Split oranı 1/20 olarak kullanılmıştır. Yağ asitlerinin tanımlanmasında yağ asidi metil esterleri standart karışımı (Supelco® 37 Component FAME Mix, Katalog No: 47885 U, Sigma-Aldrich, İnterlab A.Ş., İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır.

### 3.8. Lezzet Bileşiklerinin Analizi

Örneklerdeki uçucu aroma bileşikleri dinamik tepe boşluğu GC-MS tekniği kullanılarak Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde Yılmaz ve Seçilmiş (2006b) tarafından önerilen metodun bazı değişiklikler yapılmış hali kullanılarak belirlenmiştir. Analizler tepe boşluğu sistemi (Agilent 7697A Headspace, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ve bütünleşik

GM-MS (Agilent 7890A GC-5975C MS, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sırasında içerisinde yaklaşık 4 g peynir örneği bulunan tepe boşluğu vialı sisteme yerleştirilmiştir. Tepe boşluğu sisteminde iğne sıcaklığı 90°C, transfer hattı sıcaklığı 120°C, vial fırın sıcaklığı 85°C, termostat süresi 5 dakika, basınçlandırma süresi 0,5 dakika, enjekte etme süresi 0,08 dakika ve çekilme zamanı olarak 0,5 dakika kullanılmıştır.

GC-MS sisteminde kolon olarak CP-Wax 52 CB kolon (50m x 0.25mm, 0.2 µm film kalınlığı, Agilent Technologies, Hollanda) kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 35°C'de 5 dakika bekleme, ardından 50°C/dakika artışa 150°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 5 dakika bekleme şeklinde programlanmıştır. Dedektör ve enjektör sıcaklıkları sırasıyla 200°C ve 180°C'ye ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1,2 mL/dakika akış hızında helyum kullanılmıştır. Uçuş bileşiklerinin miktarları (mg/kg) bileşenlerin saf standartları kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafikleri ile hesaplanmıştır.

### 3.9. Peynirlerin Mikrobiyolojik Analizi

Mikrobiyolojik sayımlar için peynirlerden olgunlaşma periyodu içerisindeki analiz günlerinde aseptik olarak örnek alınmıştır. Rendelenmiş 10 g peynir örneği steril filtreli stomacher poşetlerine tartılmıştır. Üzerine 90 mL tamponlanmış peptonlu su (Peptone Water Buffered, Acc. to ISO 6579, Merck, Almanya) ilave edilerek, 3 dakika stomacherde (Blender easyMIX™, AES Chemunex, BioMérieux SA, Fransa) parçalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Böylelikle 10<sup>-1</sup>'lik dilüsyon ve bu dilüsyondan diğer seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan paralelli olarak steril petrilere 1'er mL aktarılmıştır. Daha sonra 45°C'lik su banyosunda bekletilen MRS Agar (De Man, Rogosa and Sharpe Agar, Merck, Almanya), M17 Agar (Merck, Almanya) ve PCA (Plate Count Agar, Merck, Almanya) besiyerlerinden petrilere dökme plak yöntemiyle ekimler yapılmıştır. *Lactobacillus plantarum* suşuyla üretilen peynirlerde *Lactobacillus plantarum*'un selektif sayım için Bujalance vd. (2006) tarafından önerilen 4 mg/L siprofloksasin antibiyotiği içeren MRS agar besiyeri kullanılmıştır. Petri kutuları 30°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası 30-300 arasında koloni oluşturan petrilere koloniler sayılarak peynirlerin mikrobiyal yükü tespit edilmiştir.

### **3.10. Duyusal Analiz**

Peynir örneklerinin duyusal olarak değerlendirilmesinde hedonik test kullanılmıştır (Uysal vd., 2004; Altuğ Onoğur ve Elmacı, 2015). Hedonik testler peynir tüketmeyi seven ve duyusal analize hevesli Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi öğrencileri ile idari ve akademik personel ile gerçekleştirilmiştir. Her bir duyusal panele rastgele seçilen 24 panelist katılmıştır. Panelistlerden örnekleri tattıktan sonra lezzet beğeni durumlarını değerlendirme formu üzerinde belirtilen 7'li hedonik sıkalada [çok beğendim (7 puan)-hiç beğenmedim (1 puan)] işaretlemeleri istenmiştir. Peynir örnekleri panelistlere 3 farklı rakamla kodlanmış olarak sunulmuştur. Panelistlerin örnekler arasında tadımdan sonra oluşan ağızdaki yağlılık hissi ve tadın giderilmesi için tuzsuz kepekli bisküvi yemeleri ve/veya su içmeleri sağlanmıştır. Panelistlerden değerlendirme kâğıtlarına duyusal özelliklerle ilgili (varsa) ilave tanımlamalarını ve yorumlarını da yazmaları istenerek lezzet yönünden peynirlerin beğenisinde önemli olan faktörler tespit edilmeye çalışılmıştır.

### **3.11. İstatistiksel Analiz**

Peynirlerin fiziko-kimyasal özellikleri, duyusal özellikleri ve mikrobiyolojik sayım sonuçlarına kullanılan otolitik kültürlerin ve depolama süresinin etkilerini belirlemek amacıyla SAS version 9.0 istatistik analiz paket programı (The SAS System for Windows 9.0, Chicago, ABD) ile varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. ANOVA sonucunda önemli olan veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre  $p < 0.05$  düzeyinde test edilmiş ve peynirler gruplandırılmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmamızda üretilen kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresince belirlenen kurumadde, yağ, protein ve tuz değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin kimyasal kompozisyonu\* (n=2)

	Depolama Süresi (gün)	Kurumadde (%)	Yağ (%)	Protein (%)	Tuz (%)
Kontrol	1	57,31±0,16 <sup>A</sup>	29,50±0,40 <sup>A</sup>	25,47±0,04 <sup>AB</sup>	0,35±0,10 <sup>C</sup>
	30	56,85±0,08 <sup>B</sup>	29,00±0,71 <sup>A</sup>	24,84±0,02 <sup>AB</sup>	0,34±0,02 <sup>C</sup>
	60	56,15±0,21 <sup>C</sup>	28,25±0,35 <sup>A</sup>	25,76±0,46 <sup>AB</sup>	0,81±0,07 <sup>A</sup>
	90	55,33±0,28 <sup>E</sup>	28,00±0,05 <sup>A</sup>	21,36±0,43 <sup>C</sup>	0,81±0,02 <sup>A</sup>
Destek Kültürlü Peynir	1	55,47±0,06 <sup>DE</sup>	28,75±0,35 <sup>A</sup>	25,50±0,22 <sup>AB</sup>	0,63±0,08 <sup>B</sup>
	30	55,35±0,09 <sup>E</sup>	28,50±0,71 <sup>A</sup>	24,46±0,11 <sup>AB</sup>	0,64±0,08 <sup>B</sup>
	60	56,61±0,07 <sup>B</sup>	27,00±0,06 <sup>A</sup>	26,04±0,28 <sup>A</sup>	0,69±0,05 <sup>B</sup>
	90	55,81±0,23 <sup>CD</sup>	28,50±0,50 <sup>A</sup>	23,88±2,37 <sup>B</sup>	0,81±0,02 <sup>A</sup>

\*Aynı sütunlardaki farklı harfler destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonu açısından ortalamalar arasındaki farklılıkların  $p<0,05$  düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir.

Kaşar peynirlerinin kurumadde değerlerinin %55,33 ile %57,31 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Depolama süresi dikkate alınmaksızın kontrol ve destek kültür kullanımı ile üretilen kaşar peynirlerinin kurumadde değerleri karşılaştırıldığında kontrol grubunun ortalama kurumadde değerinin (%56,41) destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin ortalama kurumadde değerinden (%55,81) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Yapılan istatistiksel analizde hem depolama süresinin hem de destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonunun kaşar peynirlerinin kurumadde değerleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.19). Tablo 4.1’den genel olarak kontrol grubu kaşar peynirlerinin depolama süresince belirlenen kurumadde değerlerinin destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin kurumadde değerlerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Peynir gruplarının kurumadde değerleri arasındaki farklılığın üretimde farklı miktarlarda çığ süt kullanımı nedeniyle oluşabilecek peynir verimi farklılığından ileri geldiği tahmin edilmektedir. Çalışmamızda üretilen kaşar peynirlerinin tamamı kurumadde içeriği açısından Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’nde

(Tebliğ No: 2015/6) belirtilen değerle (en az %50 kurumadde içermeli) uyumludur (Anonim, 2015).

Çalışmamızda üretilen kaşar peynirlerinin yağ içeriklerinin %27,00 ile 29,50 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Üretilen bütün kaşar peynirleri Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne göre yarım yağlı peynir ( $25 \leq \text{süt yağı} < 45$ ) kategorisindedir (TGK, 2015). Depolama süresi dikkate alınmaksızın kontrol ve destek kültür kullanımı ile üretilen kaşar peynirlerin yağ içerikleri karşılaştırıldığında kontrol grubunun ortalama yağ içeriğinin (%28,69) destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin ortalama yağ içeriğinden (%28,19) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ). Her ne kadar ilgili farklılık istatistiksel olarak önemli çıksa da pratikte önemli olmadığı düşünülmektedir. Yapılan istatistiksel analizde depolama süresinin de kaşar peynirlerinin yağ içeriği üzerinde etkili olduğu ( $p < 0,05$ ) ancak destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonunun peynirlerin yağ içeriği üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0,05$ ) (Tablo 4.1). Destek kültür kullanımı etkisi dikkate alınmaksızın tüm örneklere ait veriler değerlendirildiğinde depolamanın ilk ayındaki ortalama yağ değerlerinin (%29,13) en yüksek yağ değeri, depolamanın sonunda belirlenen ortalama yağ değerinin ise (%27,63) en düşük yağ değeri olduğu görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Peynir gruplarının ve depolama süresince belirlenen yağ içeriği farklılıklarının kurumadde değerleriyle benzer şekilde kaşar peyniri üretimde farklı miktarlarda çiğ süt kullanımı nedeniyle oluşabilecek peynir verimi farklılığından ve aynı zamanda haşlamaya alınan telemenin farklı kısımları arasındaki bileşim farklılıklarından kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir.

Kaşar peynirlerinin protein içerikleri %26,04 ile %21,36 arasında değişim göstermiştir. Yapılan istatistiksel analiz peynirlerin protein içerikleri üzerine destek kültür kullanımının önemli olmadığı ( $p > 0,05$ ), ancak depolama süresi ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonlarının önemli olduğunu ortaya koymuştur ( $p < 0,05$ ). Peynir örneklerinin depolamanın ilk iki ayında tespit edilen ortalama protein içerikleri istatistiksel olarak benzer bulunmuşken, depolama sonunda protein içeriğinin istatistiksel olarak azaldığı belirlenmiştir. Destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonu açısından örneklerin protein değerlerinin depolama süresinceki değişimlere benzer değişim gösterdiği tespit edilmiştir. (Tablo 4.1)

Araştırmada üretilen kaşar peynirlerinin tuz içerikleri %0,34 ile %0,81 arasından değişim göstermiştir (Tablo 4.1). Destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin ortama tuz içeriğinin (%0,69) kontrol kaşar peynirinin ortama tuz içeriğinden (%0,57) daha yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Bu durum muhtemelen kontrol grubu kaşar

peynirinin daha yüksek kurumadde içeriği ile ilişkilendirilebilir. Zira üretimde aynı pıhtı miktarına aynı oranda tuz konulduğundan kurumaddeyi daha az olan kısımda tuz içeriğinin daha yüksek olması olağandır. Depolama süresinin birinci gün ve 30. günündeki ortalama tuz içerikleri en düşük değerlere (her ikisi de %0,49) sahip ve birbirine benzer iken kaşar peynirlerindeki en yüksek ortalama tuz içerikleri 60 ve 90 gün depolama sonunda (%0,75 ve %0,81) belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Yapılan istatistiksel analiz destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonunun da peynirlerin tuz içeriklerini etkilediğini göstermiştir ( $p<0,05$ ) (Tablo 4.1). Genel olarak depolamanın ilk aylarında düşük olan peynirlerin tuz içerikleri ilerleyen aylarda yükselmiştir. Bu durum peynirlerin kurumadde içeriğinin azalması ile paralel olarak gerçekleşmiştir.

Kaşar peynirlerinin kurumadde tuz değerlerine bakıldığında peynirlerin kurumadde tuz içeriklerinin %0,61 ile %1,45 arasında değiştiği belirlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (Tebliğ No: 2015/6) taze kaşar peynirlerinde kurumadde tuz içeriğinin en fazla %3 olmasına izin verilmektedir (Anonim, 2015). Araştırmamızda üretilen bütün kaşar peynirlerin tuz içeriklerinin Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne uygun olduğu bulunmuştur.

Araştırmamızda üretilen kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresince belirlenen pH, asitlik ve toplam serbest yağ asitliği değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin pH, asitlik ve toplam serbest yağ asitliği değeri\* (n=2)

	Depolama Süresi (gün)	pH	Asitlik (%)	Toplam Serbest Yağ Asitliği Değeri (meq/100g yağ)
Kontrol	1	5,20±0,02 <sup>A</sup>	1,04±0,01 <sup>A</sup>	0,33±0,01 <sup>A</sup>
	30	5,27±0,02 <sup>A</sup>	1,43±0,02 <sup>A</sup>	0,89±0,02 <sup>A</sup>
	60	5,45±0,03 <sup>A</sup>	0,88±0,06 <sup>A</sup>	0,84±0,15 <sup>A</sup>
	90	5,41±0,02 <sup>A</sup>	0,96±0,04 <sup>A</sup>	0,67±0,01 <sup>A</sup>
Destek Kültürlü Peynir	1	5,27±0,01 <sup>A</sup>	1,01±0,01 <sup>A</sup>	0,33±0,08 <sup>A</sup>
	30	5,34±0,02 <sup>A</sup>	1,20±0,12 <sup>A</sup>	0,73±0,13 <sup>A</sup>
	60	5,45±0,02 <sup>A</sup>	0,93±0,13 <sup>A</sup>	0,54±0,19 <sup>A</sup>
	90	5,42±0,02 <sup>A</sup>	0,94±0,02 <sup>A</sup>	0,76±0,05 <sup>A</sup>

\*Aynı sütunlardaki farklı harfler destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonu açısından ortalamalar arasındaki farklılıkların  $p<0,05$  düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda üretilen bütün kaşar peynirlerinin pH değerleri incelendiğinde pH'nın olgunlaşma süresince 5,20 ile 5,45 arasında değiştiği görülmektedir (Tablo 4.2). Yapılan istatistiksel analizde destek kültür kullanımı ve depolama süresinin peynirlerin pH değerleri üzerinde önemli olduğu ( $p<0,05$ ) ancak destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonunun peynirlerin pH değerleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.2). Depolama süresi dikkate alınmaksızın kontrol ve destek kültür kullanımı ile üretilen kaşar peynirlerin pH değerleri karşılaştırıldığında, her ne kadar pH değerleri birbirine yakın olsa da, istatistiksel olarak destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin ortalama pH değerinin (5,37) kontrol grubunun ortalama pH değerinden (5,33) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Ancak bu durumun pratikte önemi bulunmamaktadır. Peynirlerin depolama süresince belirlenen pH değerleri incelendiğinde başlangıçta en düşük değerde olan pH'nın depolamanın ilk aylarında yükseldiği son ayda ise tekrar düştüğü görülmektedir (Tablo 4.2). İstatistiksel analiz en düşük ortama pH değerinin (5,23) depolamanın ilk gününde görüldüğünü ( $p<0,05$ ), birinci ayda önemli derece arttığını (5,30) ( $p<0,05$ ), ardından ikinci ayda en yüksek değerine (5,45) ulaştığını ve depolamanın üçüncü ayında (5,41) ise tekrar azaldığını ( $p<0,05$ ) göstermiştir.

Kaşar peynirlerinin asitlik değerleri (%) destek kültür kullanımı ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonundan etkilenmemiş ( $p>0,05$ ) iken depolama süresinden etkilenmiştir ( $p<0,05$ ). Kontrol kaşar peynirlerinin ortalama asitlik değeri (1,08) olarak bulunmuş iken destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinin ortalama asitlik değeri (1,01) olarak bulunmuştur ( $p>0,05$ ). Peynirlerin ortalama en yüksek asitlik değeri (%1,31) depolamanın 30. gününde belirlenirken, diğer günlerdeki ortalama asitlik değerlerinin istatistiksel olarak birbirine benzer olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda üretilen kaşar peynirlerinin toplam serbest yağ asitliği (ADV) değerleri depolama süresince 0,33 ile 0,89 meg / 100 g süt yağı olarak değişim göstermiştir. Kaşar peynirlerinin ADV'si üzerine destek kültür kullanımı ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksiyonunun etkili olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.2). Söz konusu bulgu destek kültürün 3 aylık depolama süresince kaşar peynirinde lipolize katkı sağlamadığını ortaya koymaktadır. Kaşar peynirlerinin ortalama ADV değerleri depolama süresinde değişim göstermiştir ( $p<0,05$ ). Depolamanın ilk gününde en düşük değerde (0,33 meg / 100 g süt yağı) olan ADV değerinin, depolamanın diğer günlerindeki değerleri ilk günden yüksek ve birbirine benzer bulunmuştur.

Araştırmamızda üretilen kaşar peyniri örneklerinin depolama süresince belirlenen suda çözünür azot, toplam azot ve olgunlaşma indeksi değerleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

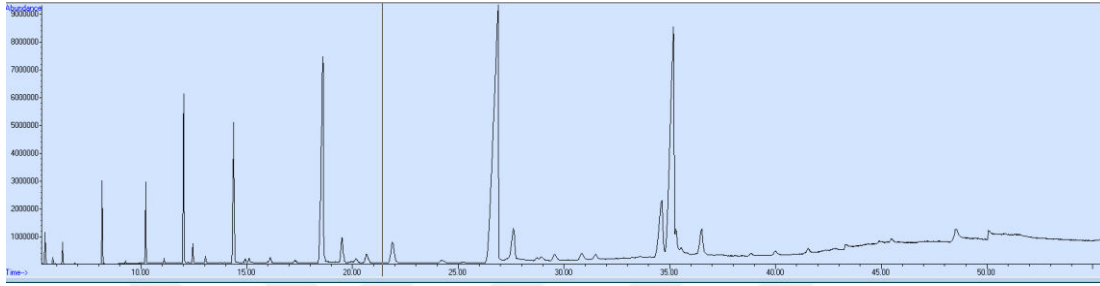
**Tablo 4.3.** Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin suda çözünür azot, toplam azot ve olgunlaşma indeksi değerleri\* (n=2)

Kaşar Peyniri	Depolama Süresi (gün)	Suda Çözünür Azot (g/100g)	Toplam Azot (g/100g)	Olgunlaşma İndeksi
Kontrol	1	0,37±0,03 <sup>B</sup>	3,99±0,01 <sup>A</sup>	9,30±0,64
	30	0,53±0,01 <sup>A</sup>	3,89±0,01 <sup>A</sup>	13,66±0,35
	60	0,41±0,04 <sup>B</sup>	4,04±0,07 <sup>A</sup>	10,22±0,88
	90	0,51±0,05 <sup>A</sup>	3,74±0,48 <sup>A</sup>	13,73±0,03
Destek Kültürlü Kaşar Peyniri	1	0,27±0,02 <sup>C</sup>	3,99±0,03 <sup>A</sup>	6,70±0,64
	30	0,41±0,04 <sup>B</sup>	3,83±0,02 <sup>A</sup>	10,76±0,98
	60	0,42±0,04 <sup>B</sup>	4,09±0,04 <sup>A</sup>	10,32±0,82
	90	0,53±0,01 <sup>A</sup>	3,35±0,07 <sup>A</sup>	15,72±0,02

\*Aynı sütunlardaki farklı harfler destek kültür ilavesi x depolama süresi interaksyonu açısından ortalamalar arasındaki farklılıkların p<0,05 düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda üretilen kaşar peynirlerinin suda çözünen azot değerleri 0,27 ile 0,53 g/100g arasında değişim göstermiştir (Tablo 4.3). Genel olarak kaşar peynirlerinin suda çözünen azot değerleri olgunlaşma süresi boyunca artış göstermiştir. Depolama süresince suda çözünen azot değerlerindeki değişim istatistiksel olarak değerlendirildiğinde en düşük suda çözünen azot içeriği olgunlaşmanın ilk gününde, en yüksek suda çözünen azot içeriği ise depolamanın 90. gününde belirlenmiştir (p<0,05). Yapılan istatistiksel analiz peynirlerin suda çözünen azot içerikleri üzerine destek kültür kullanımı ve destek kültür kullanımı x depolama süresi interaksyonunun da etkili olduğunu göstermiştir (p<0,05) (Tablo 4.3). Kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresince olgunlaşma indeksi değerleri 6,70 ile 15,72 arasında değişim göstermiştir. Elde edilen olgunlaşma indeksi değerleri Sert vd. (2007) ile Özer vd. (2008) tarafından kaşar peynirlerinde belirlenen olgunlaşma indeksi değerleriyle benzer bulunmuştur. Olgunlaşma indeksi değerleri suda çözünen azot değerleri ile paralel olarak olgunlaşma süresi ile artış göstermiştir. Elde edilen bulgular destek kültür kullanımının kaşar peynirinin 3 aylık olgunlaşma süresi boyunca proteolize katkı yapmadığını ortaya koymaktadır.

Kaşar peynirlerin yağ asitleri kompozisyonunu gösteren örnek bir kromatogram Şekil 4.1’de verilmiştir. Araştırmamızda üretilen kontrol ve *L. lactis* subsp. *cremoris*’i destek kültür olarak içeren kaşar peynirlerinde depolamanın başlangıcında bulunış yoğunluğuna göre belirlenen kısa (C4:0 ve C6:0) ve orta zincirli (C8:0, C10:0 ve C12:0) serbest yağ asitlerinin *L. plantarum*’u destek kültür içeren kaşar peynirinde olduğu gibi sırasıyla laurik (C12:0), kaprik (C10:0), kaproik (C6:0), kaprilik (C8:0) ve bütirik asitler olduğu görülmektedir (Tablo 4.4).



**Şekil 4.1.** *L. lactis* subsp. *cremoris*’i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneğine ait yağ asitleri kromatogramı

Kontrol ve destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peyniri örneğindeki uzun zincirli yağ asitlerinin bulunma oranlarının büyükten küçüğe doğru palmitik asit (C16:0) > oleik asit (C18:1), miristik asit (C14:0), stearik asit (C18:0), linoleik asit (C18:2) ve palmitoleik asit (C16: 1) şeklinde olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerindeki en fazla bulunan doymuş yağ asitleri palmitik asit (C16: 0), miristik asit (C14: 0) ve stearik asit (C18: 0) olarak tespit edilmiştir. Palmitik asit bütün peynir örneklerinde en fazla bulunan doymuş yağ asidi iken oleik asit bütün peynir örneklerinde en fazla bulunan doymamış yağ asididir. Kaşar peyniri örneklerinin yağ asidi kompozisyonları Kınık vd. (2005) tarafından rapor edilen inek sütünden üretilen farklı tip peynirlerin yağ asidi kompozisyonları ile oldukça benzer bulunmuştur. Üretilen kaşar peynirlerinin depolamanın ilk günündeki kısa ve orta zincirli yağ asidi içerikleri karşılaştırıldığında, bütirik, kaproik, kaprilik ve kaprik asidin kontrol grubu kaşar peyniri örneğinde, laurik asidin ise *L. lactis* subsp. *lactis*’i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneğinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum depolamanın başlangıcında kontrol grubu peynirde lipolitik aktivitenin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Söz konusu beş yağ asidi içeriği ortalama bulunma oranları destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinde depolamanın 30. ve 60. günü hariç diğer günlerde kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Özellikle

depolamanın 60. gününde söz konusu yağ asitlerinin ortama bulunma oranı destek kültür kullanılarak üretilen peynirde belirgin derece yüksektir. Kontrol grubu peynirde depolamanın ilk gününden itibaren söz konusu yağ asitlerinin bulunma oranları depolamanın 60. gününe kadar azalmış, depolamanın 90. gününde ise artış göstermiştir. Destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirinde ise ilgili yağ asitlerinin ortalama bulunma oranları depolama süresince artmıştır. Uzun zincirli yağ asitlerine bakıldığında oleik asidin bulunma oranı her iki peynirde de depolamanın 60. gününe kadar artış sonrasında azalış göstermiş iken palmitik asidin bulunma oranının depolama süresince önemli bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Kontrol kaşar peynirinde depolamanın sonundaki kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin ortalama bulunma oranlarının (%1,91) *L. lactis* subsp. *cremoris*'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneklerindeki ortalama bulunma oranından (%1,81) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde çalışmada kullanılan üretim koşullarında *L. lactis* subsp. *cremoris*'in destek kültür olarak kullanımının kaşar peynirinde lipolize katkı sağlamadığı söylenebilir.

**Tablo 4.4.** Kontrol ve *L. lactis* subsp. *cremoris*'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneklerinin 90 günlük depolama süresi boyunca serbest yağ asidi kompozisyonu (relatif bulunma oranı, %)\*

Bileşen	Kontrol Kaşar Peyniri				<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 'i Destek Kültür Olarak İçeren Kaşar Peyniri			
	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
C4:0	0,87±0,08	0,77±0,08	1,01±0,18	1,15±0,04	0,68±0,44	0,84±0,02	1,03±0,06	0,68±0,47
C6:0	1,30±0,05	1,28±0,05	1,20±0,04	0,85±0,08	1,20±0,13	1,33±0,01	1,34±0,06	1,14±0,24
C7:0	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,00	0,01±0,00	0,02±0,01	0,02±0,01	0,01±0,00	0,02±0,00
C8:0	1,13±0,06	1,15±0,04	1,03±0,02	1,45±0,07	1,09±0,10	1,17±0,03	1,22±0,06	1,32±0,18
C9:0	0,02±0,01	0,04±0,03	0,04±0,00	0,02±0,00	0,02±0,00	0,03±0,00	0,05±0,01	0,02±0,00
C10:0	2,65±0,15	2,66±0,05	2,33±0,04	2,82±0,14	2,58±0,12	2,69±0,04	2,64±0,18	2,77±0,08
C11:1	0,27±0,02	0,05±0,01	0,05±0,00	0,05±0,03	0,26±0,01	0,07±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01
C11:0	0,02±0,01	0,02±0,01	0,02±0,01	0,05±0,04	0,05±0,00	0,02±0,01	0,03±0,01	0,02±0,01
C12:0	3,22±0,19	3,25±0,08	2,79±0,03	3,26±0,11	3,25±0,17	3,22±0,05	3,07±0,18	3,13±0,12
C14:0	9,94±0,44	10,03±0,09	8,53±0,24	9,97±0,23	10,16±0,37	9,91±0,10	4,90±4,55	9,51±0,37
C14:1 n-5	0,93±0,03	0,90±0,02	0,87±0,04	0,89±0,02	0,93±0,05	0,94±0,01	6,17±6,15	0,84±0,03
α-C15:0	0,56±0,15	0,47±0,00	0,43±0,01	0,42±0,02	0,23±0,00	0,46±0,01	0,48±0,04	0,41±0,01
C15:0	1,02±0,03	1,03±0,04	0,87±0,04	0,96±0,02	1,05±0,03	0,98±0,04	0,95±0,06	0,88±0,02
C15:1 n-5 (cis)	0,27±0,04	0,32±0,15	0,19±0,06	0,13±0,02	0,48±0,04	0,23±0,03	0,24±0,09	0,19±0,07
C16:0	31,71±0,79	31,62±0,13	29,39±0,57	31,44±0,30	32,53±1,23	31,05±0,27	30,78±1,15	31,27 ±0,30
C16:1 n-7	1,82±0,15	2,06±0,30	0,47±0,25	1,86±0,06	1,68±0,04	2,28±0,38	0,80±0,33	1,91±0,24
C17:0	0,40±0,02	0,49±0,01	0,60±0,21	0,42±0,02	0,38±0,03	0,32±0,08	0,89±0,27	0,41±0,06
C17:1 n-7(cis)	0,35±0,20	0,59±0,02	0,72±0,26	0,69±0,03	0,45±0,01	0,49±0,04	0,73±0,44	0,75±0,14
C18:0	9,75±0,37	9,67±0,21	8,38 0,56	9,65±0,43	9,89±0,37	9,64±0,05	8,93±0,57	10,54±0,10
C18:1	26,74±0,95	27,01±0,85	31,05±0,57	25,53±0,54	25,85±0,95	27,19±0,31	28,14±1,50	26,58 ±0,63
C18:2 n-6	2,30±0,60	3,19±0,20	3,33±0,99	3,49±0,14	2,81±0,13	3,17±0,04	2,43±0,97	3,69 ±0,11
C18:3 n-6	0,21±0,04	0,29±0,04	0,27±0,07	0,41±0,12	0,27±0,13	0,29±0,07	0,22±0,03	0,27±0,04
C18:3 n-3	0,59±0,21	0,77±0,05	1,07±0,38	0,72±0,06	0,73±0,03	0,80±0,06	0,85±0,20	0,66±0,09
C20:0	0,11±0,10	0,24±0,10	0,25±0,12	0,24±0,05	0,15±0,09	0,11±0,05	0,41±0,12	0,13±0,03

\*: Relatif bulunma oranı (%) ilgili bileşiğin kromatogramdaki yüzde alanını göstermektedir



Araştırmamızda üretilen kaşar peyniri örneklerinde 90 gün depolama süresince belirlenen bazı uçucu lezzet bileşikleri ve konsantrasyonları Tablo 4.5'te verilmiştir. Kaşar peynirlerinde 7 adet alkol grubundan bileşik çalışılmış ve bunlardan en yüksek konsantrasyonlarda olanların 2-propanol ve etil alkol olduğu görülmüştür. Araştırmamızda üretilen iki grup kaşar peyniri örneğindeki etil alkol konsantrasyonlarının genel olarak depolama süresince azaldığı tespit edilmiştir. Genel olarak kontrol peynirinin daha yüksek konsantrasyonda etil alkol belirlenmiştir.

Üretilen kaşar peynirlerinde asetaldehit ve benzaldehit olmak üzere 2 aldehit bileşiğinin konsantrasyonları araştırılmıştır. Depolama süresince kaşar peynirlerindeki asetaldehit konsantrasyonunun birbirine benzer olduğu belirlenmiştir. Benzaldehitin kaşar peynirlerinde bulunmadığı ya da çok düşük konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiştir.

Kaşar peyniri örneklerinde 3 keton bileşiğinin konsantrasyonları belirlenmiştir. Diasetil kaşar peynirlerinde çalışılan bileşikler içinde peynirlerde en yüksek konsantrasyonda bulunan bileşiklerden birisi olmuştur. Depolamanın 60. gününe kadar istatistiki açıdan birbirine benzer olan peynirlerin diasetil konsantrasyonu depolamanın sonunda destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirlerinde kontrol peynirine göre daha yüksek belirlenmiştir.

Çalışmamızda 6 asit bileşiğinin konsantrasyonları belirlenmiş ve bunlardan üretilen kaşar peynirlerinde en fazla bulunanların asetik asit ve bütirik asit olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgumuz *L. plantarum*'un destek kültür olarak kaşar peyniri üretiminde kullanılması çalışmasındaki bulgularımız ve Hayaloğlu (2009)'un elde ettiği bulgulara benzerlik göstermektedir. Asetik asitin konsantrasyonu depolanın ilk ayna kadar her iki grup peynir örneğinde benzer, sonraki günlerinde *L. lactis* subsp. *cremoris*'i destek kültür olarak içeren peynirde daha yüksek konsantrasyonda belirlenmiştir. Peynirler ransit tattan sorumlu olan temelde lipoliz sonucu meydana gelen bütirik asidin peynirlerdeki konsantrasyonu çalışmamızın bir önceki bölümünde elde ettiğimiz bulgulardan farklı olarak depolama süresince azalmıştır. Benzer durum valerik ve izovalerik asitler içinde geçerlidir. Depolama süresince peynir örneklerinin benzer konsantrasyonda bütirik asit içerdiği belirlenmiştir. Bu sonuç çalışmamızda izole edilen *L. lactis* subsp. *cremoris*'in destek kültür olarak kullanımının mevcut üretim koşullarında lipolize önemli katkı yapmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda yukarıda bahsedilen temel kimyasal gruplara ait bileşiklerin dışında bir kaşar peynirlerinde olgunlaşma sırasında kükürtlü aminoasitleri içeren peptitlerin degradasyonu sonucu oluşabilen karbondisülfid, çok düşük konsantrasyonda da olsa

karotenin degradasyonu sonucu oluşan tolüen, benzen türevi olan pirol, fenolik bileşiklerden fenol ve kreosol ile diğer bileşiklerden hekzan ve dietileter belirlenmiştir. Aynı bileşikler Hayaloğlu (2009) tarafından eski kaşar peynirlerinde de belirlenmiştir.



**Tablo 4.5.** Kaşar peyniri örneklerinde 90 gün depolama süresince belirlenen bazı uçucu lezzet bileşikleri(g/kg)\*

Bileşen	Depolama Süresi (gün)															
	1				30				60				90			
	K	Std	D	Std	K	Std	D	Std	K	Std	D	Std	K	Std	D	Std
Dietileter	1,46	0,79	3,55	3,94	2,92	1,07	1,89	0,27	1,90	1,81	1,07	1,02	1,47	0,45	0,68	0,39
Hekzan	0,73	0,40	15,87	21,90	1,46	0,54	0,95	0,13	0,95	0,91	0,54	0,51	0,74	0,22	0,34	0,20
Karbondisülfid	6,04	4,33	10,96	0,63	6,24	4,24	7,00	0,39	4,72	0,06	5,52	1,26	3,94	2,20	2,22	2,36
Asetaldehit	1,15	0,32	2,16	2,05	1,85	0,02	1,64	0,10	0,76	0,17	1,50	0,24	0,76	0,26	0,86	0,11
Aseton	0,58	0,65	0,33	0,23	0,26	0,01	0,46	0,02	0,13	0,01	0,19	0,02	0,26	0,10	0,16	0,02
Etil asetat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-propanol	8,20	1,22	7,69	0,47	7,42	0,25	7,40	0,21	7,56	0,22	7,92	0,18	7,93	0,09	7,64	0,45
Etanol	4,75	3,77	5,90	6,47	1,93	2,08	1,12	0,81	1,44	0,05	2,63	0,14	0,90	0,07	0,65	0,18
Diasetil	79,23	2,45	397,20	403,79	225,94	23,95	201,11	27,85	107,22	6,83	104,38	11,45	20,50	3,92	95,59	34,89
2-bütanol	-	-	0,88	-	-	-	0,45	0,25	-	-	-	-	-	-	0,13	-
1-propanol	-	-	152,41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-metil-1-bütanol	0,10	0,06	6,35	8,83	0,06	0,02	0,07	0,01	0,19	0,23	0,05	0,03	0,29	0,37	0,07	0,03
Toluen	0,01	0,00	0,06	0,07	0,03	-	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	-	-	-	-	-
Asetik Asit	13,92	0,00	27,95	19,83	15,01	1,54	13,92	0,00	13,92	0,00	36,25	14,52	13,92	0,00	15,71	2,52
Formik asit	0,82	-	0,64	0,18	0,68	0,09	0,71	-	-	-	0,60	-	-	-	-	-
Pirol	0,06	-	-	-	0,06	0,03	0,10	0,02	-	-	0,07	-	0,04	-	0,07	-
Benzaldehit	-	-	-	-	-	-	0,85	-	-	-	-	-	0,30	-	-	-
1-oktanol	-	-	0,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-metil-bütirik asit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bütirik asit	10,59	4,14	31,40	35,42	11,24	4,84	9,89	8,53	1,52	0,97	0,98	0,29	0,87	0,08	2,18	2,39
Asetofenon	0,07	0,00	-	-	0,07	0,00	-	-	-	-	0,07	-	-	-	-	-
İsovalerik asit	1,91	-	-	-	1,86	-	-	-	-	-	2,44	-	-	-	-	-
Valerik asit	1,67	0,33	3,01	3,16	0,86	0,34	0,84	-	0,95	-	0,68	-	-	-	-	-
Fenil etil alkol	3,33	0,02	3,26	0,08	3,18	0,03	3,18	0,05	3,03	0,00	3,04	0,04	-	-	3,02	0,00
Fenol	-	-	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kreosol	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	0,00	0,02	-	0,02	0,00	-	-	0,02	0,00

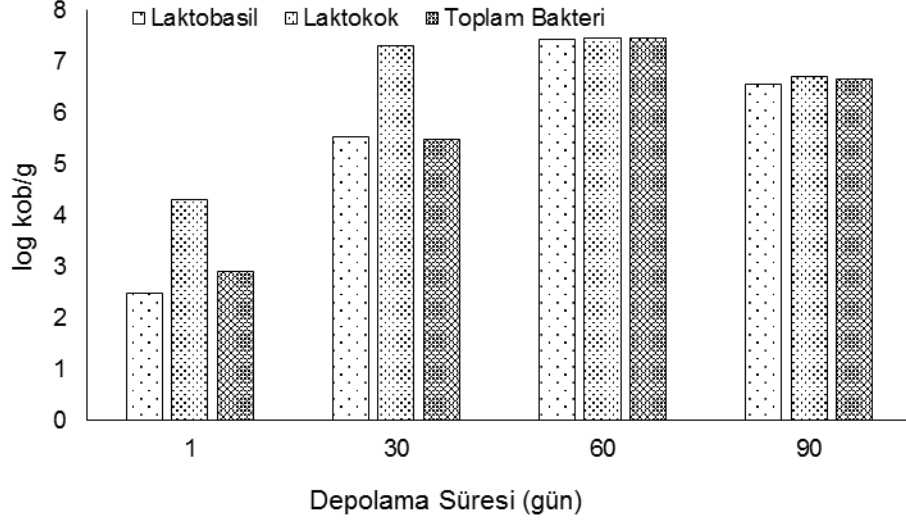
\*: K: Kontrol kaşar peyniri, D: Destek kültür olarak *L. lactis* subsp. *cremoris*'i içeren kaşar peyniri, Std: Standart sapma

Depolama süresinde kaşar peyniri örneklerinde toplam laktobasil, toplam laktokok ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının değişimi Tablo 4.6 ile Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te verilmiştir.

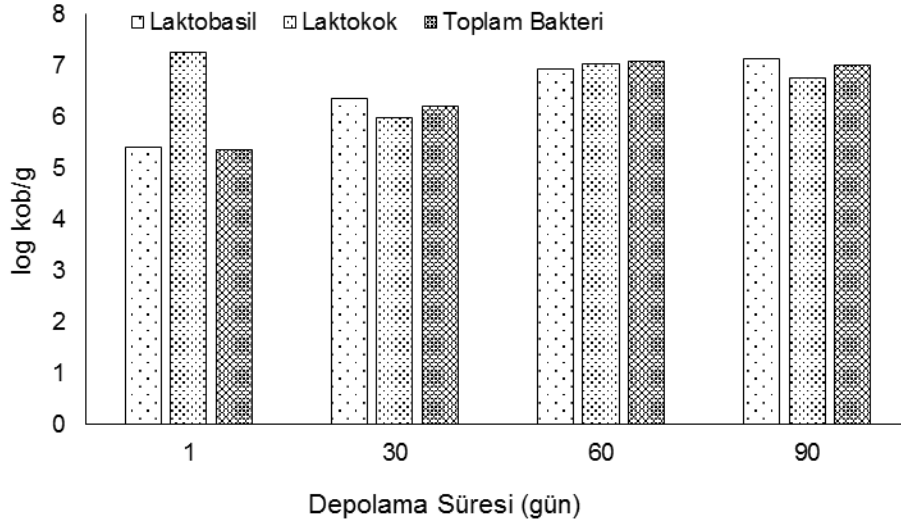
**Tablo 4.6.** Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinde laktobasil, laktokok ve toplam aerobik mezofilik bakteri sayılarının değişimi (log kob/g)

Depolama Süresi (gün)	Kontrol Kaşar Peyniri			<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 'i Destek Kültür Olarak İçeren Kaşar Peyniri		
	Laktobasil	Laktokok	Toplam Bakteri	Laktobasil	Laktokok	Toplam Bakteri
1	2,48	4,30	2,92	5,40	7,26	5,36
30	5,54	7,30	5,48	6,36	6,00	6,20
60	7,43	7,46	7,46	6,94	7,04	7,08
90	6,57	6,72	6,66	7,15	6,76	7,00

Kontrol kaşar peyniri örneği ile *L. lactis*'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneklerinin toplam laktobasil ve laktokok sayıları karşılaştırıldığında iki mikrobiyal grubun depolamanın birinci gününde destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peynirinde daha yüksek sayıda bulunduğu belirlenmiştir. *L. lactis*'in destek kültür olarak kullanıldığı kaşar peynirinde laktokok sayısının kontrol peynirinden daha yüksek bulunması beklenen bir durumdur. Depolamanın 30. gününde kontrol grubunda destek kültür kullanılan peynire kıyasla daha yüksek sayıda olduğu görülmüştür. Depolamanın 60 ve 90. günlerinde her iki peynir grubundaki laktobasil ve laktokok sayılarındaki değişimlerin 1 logaritmik birimin altında olduğu yani iki peynir grubundaki bakteri sayılarının aralarındaki farklılıkların önemli olmadığı anlaşılmaktadır. Bu durum *L. planturum*'un destek kültür olarak kullanılan peynirlerde de aynı şekilde görülmüştür. Depolanın ilk ayında toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı beklenildiği biçimde destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peyniri örneklerinde daha yüksek bulunmuştur. Depolamanın sonraki aylarında söz konusu mikrobiyal grup açısından her iki peynirdeki bakteri sayıları birbirine benzerdir.



Şekil 4.2. Depolama süresince kontrol kaşar peyniri örneklerinde farklı mikroorganizma sayılarının değişimi



Şekil 4.3. Depolama süresince destek kültür olarak *L. lactis* subsp. *cremoris* içeren kaşar peyniri örneklerinde farklı mikroorganizma sayılarının değişimi

Araştırmada depolama süresince kontrol ve *L. lactis*'i destek kültür olarak içeren kaşar peyniri örneklerinin duyu analizleri ile belirlenen lezzet açısından beğeni durumu Tablo 4.7'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analizde destek kültür ilavesinin, depolama süresinin ve destek kültür kullanımı x depolama süresi etkileşiminin peynirlerin duyu lezzet karakteristiği üzerine önemli derecede etki ettiği ( $p < 0,05$ ) belirlenmiştir.

Depolama süresince genel olarak (1. ve 90. gün hariç) destek kültür içeren kaşar peyniri örnekleri kontrol grubundan daha yüksek lezzet puanları almıştır ( $p<0,05$ ). Depolama süresince duyuşal panellerde elde edilen tüm veriler değerlendirildiğinde (her bir peynir için  $n=192$ ) kontrol kaşar peyniri örneğinin ortalama lezzet puanının 3,51, destek kültür kullanılarak üretilen kaşar peyniri örneğinin lezzet puanının 4,22 olduğu ve iki değer arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Elde edilen sonuçlar destek kültür kullanımının genel olarak kaşar peynirinde lezzet açısından tüketici beğenisini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir.

**Tablo 4.7.** Depolama süresince kaşar peyniri örneklerinin duyuşal analizler ile belirlenen lezzet açısından beğeni durumu\* ( $n=48$ )

Duyuşal Analiz Parametresi	Depolama Süresi (gün)	Kontrol Kaşar Peyniri	<i>L. lactis</i> 'i Destek Kültür Olarak İçeren Kaşar Peyniri
Lezzet	1	4,00±2,03 <sup>B</sup>	4,21±2,04 <sup>AB</sup>
	30	3,08±1,87 <sup>CD</sup>	4,85±1,91 <sup>A</sup>
	60	2,60±1,88 <sup>D</sup>	4,06±1,98 <sup>B</sup>
	90	4,35±1,62 <sup>AB</sup>	3,75±1,77 <sup>BC</sup>

\*Satır ve sütunlardaki farklı harfler ortalamalar arasındaki farklılıkların  $p<0,05$  düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada peynir teknolojisinde starter ve/veya destek kültür olarak kullanım potansiyeli olduğu düşünülen otolitik aktivitesi yüksek laktik asit bakterilerinden *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (PFC233, 17M20, otoliz oranı %44,30) seçilmiş ve kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanımını endüstriyel koşullarda denenmiştir. Çalışmada elde edilen bazı sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır.

- *L. lactis* subsp. *cremoris*'in kaşar peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanımı, toplam serbest yağ asitleri değeri ve serbest yağ asitleri kompozisyonu ile belirlenen lipoliz ve olgunlaşma indeksi ile belirlenen proteolize önemli bir katkı sağlamamıştır.
- Duyusal analiz sonuçları, *L. lactis* subsp. *cremoris*'in kaşar peyniri lezzetini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir.
- Duyusal analizlerde elde edilen sonuçlar, çalışmada lezzet verici bileşiklerin belirlenmesi için kullanılan kromatografik yöntemle doğrulanamamıştır. Bundan sonraki çalışmalarda uçucu bileşen analizlerinin katı faz mikro ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yapılması ve peynirlerin tekstürel özelliklerinin de uygun yöntemlerle belirlenmesi önerilmektedir.
- Bundan sonraki çalışmalarda aynı kültürün daha yüksek inokulasyon oranlarında kullanılması denenmelidir.
- Peynir üretiminde denenmeden önce destek kültür ile hali hazırda kullanılan starter kültür/ler aynı ortamda çoğaltılarak gelişim özellikleri incelenmelidir.

## KAYNAKLAR

- Altuğ Onoğur, T., Elmacı, Y., 2015. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme. 3. Baskı. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir.
- Anonim, 2015. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (Tebliğ No: 2015/6), 8 Şubat 2015 Tarih ve 29261 Sayılı Resmi Gazete, Ankara.
- Anonim,,2018.  
[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:OSC\\_Microbio\\_03\\_03\\_Peptidogly.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:OSC_Microbio_03_03_Peptidogly.jpg).  
Erişim Tarihi: 19.08.2018.
- Axelsson L., Ahrné S. (2000) Lactic Acid Bacteria. In: Priest F.G., Goodfellow M. (eds) Applied Microbial Systematics. Springer, Dordrecht.
- Axelsson, L., 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, Second Edition, Salminen, S., von Wright, A. (Editors), Marcel Dekker Inc., New York, USA, 1-72.
- Bourdat-Deschamps, M., Le Bars, D., Yvon, M., Chapot-Chartier, M., 2004. Autolysis of *Lactococcus lactis* AM2 stimulates the formation of certain aroma compounds from amino acids in cheese model. *International Dairy Journal*, 14, 791-799.
- Boutrou, R., Sepulchre, A., Gripon, J.C., Monnet, V., 1998. Simple tests for predicting the lytic behavior and proteolytic activity of lactococcal strains in cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 2321-2328.
- Broome, M.C., Powell, I.B., Limsowtin, G.K.Y., 2011. Cheese - Starter Cultures: Specific Properties. In: Fuquay, J.W. (Ed) Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition), pp. 559–566, San Diego, Academic Press.
- Bujalance, C., Jimenez-Valera, M., Moreno, E., Ruiz-Bravo, A., 2006. A selective differential medium for *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Microbiological Methods*, 66, 572-575.
- Burgain, J., Scher, J., Francius, G., Borges, F., Corgneau, M., Revol-Junelles, A.M., Cailliez-Grimal, C., Gaiani, C., 2014. Lactic acid bacteria in dairy foods: surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in Colloid and Interface Science*, 213, 21-35.
- Chapot-Chartier, M., Kulakauskas, S., 2014. Cell wall structure and functions in lactic acid bacteria. *Microbial Cell Factories*, 13, 1-23.
- Crow, V.L., Martley, F.G., Coolbear, T., Roundhill, S.J., 1995. The influence of phage assisted lysis of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ML8 on Cheddar cheese ripening, *International Dairy Journal*, 5, 451-472.



- Crow, V., Curry, B., Hayes, M., 2001. The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. *International Dairy Journal*, 11, 275-283.
- Cibik, R., Chapot-Charter, M.-P., 2000. Autolysis of dairy leuconostoc and detection of peptidoglycan hydrolases by renaturing SDS-PAGE. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 862-869.
- Cibik, R., Chapot-Charter, M.-P., 2004. Characterization of autolytic enzymes in *Lactobacillus pentosus*. *Letters in Applied Microbiology*, 38, 459-463.
- Colakoglu, H., Gursoy, O., 2011. Effect of lactic adjunct cultures on conjugated linoleic acid (CLA) concentration of yogurt drink. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(1), 60-64.
- Coyette, J., Ghuysen, J.-M., 1970. Wall autolysin of *Lactobacillus acidophilus* strain 63 AM Gasser. *Biochemistry*, 9(15), 2952-2955.
- Çakmakçı, S., 2011. Türkiye Peynirleri. Bölüm 19. Peynir Biliminin Temelleri, Editörler: A.A. Hayaloğlu, B. Özer, Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir.
- Çıbık, R., 2010. Biochemical factors influencing autolysis of Leuconostocs in buffer. *Uludag University Journal of Faculty of Veterinary Medicine*, 29(1), 37-41.
- Çökmüş, C., 2010. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi, Çev. Ed: Prof. Dr. Cumhuri Çökmüş, Onbirinci Baskıdan Çeviri, 2010 (Brock Biology of Microorganisms, M.T. Madigan, J. M. Martinko, 11th Ed., 2006).
- De Vuyst, L., Leroy F., 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification, and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 13, 194-199.
- Deutsch, S.M., Neveu, A., Guezenec, S., Ritzenthaler, P., Lortal, S., 2003. Early lysis of *Lactobacillus helveticus* CNRZ 303 in Swiss Cheese is not prophage-related. *International Journal of Food Microbiology*, 81, 147-157.
- El-Kholy, W., El-Soda, M., Ezzat, N., El Shafei, H., 1998. Autolysis and intracellular enzyme release from cheese related dairy lactobacilli. *Lait*, 78, 439-452.
- El-Soda, M., 1993. The role of lactic acid bacteria in accelerated cheese ripening. *FEMS Microbiology Reviews*, 12, 239-252.
- El-Soda, M., Ahmed, N., Omran, N., Osman, G., Morsi, A., 2003. Isolation, identification and selection of lactic acid bacteria cultures for cheesemaking. *Emirates Journal of Agricultural Sciences*, 15(2), 51-71.
- El-Soda, M., Awad, A., 2011. Accelerated cheese ripening. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition, Fuguay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Editors), Elsevier Ltd., UK, 795-798.

- Fox, P.F., Wallace, J.M., Morgan, S., Lynch, C.M., Niland, E.J., Tobin, J., 1996. Acceleration of cheese ripening. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 271-297.
- Fox, P.F., 2011. Overview: Cheese. In: Encyclopedia of Dairy Sciences, Second Edition, Fuguay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Editors), Elsevier Ltd., UK, 534-535.
- Hannon, J.A., Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M., Beresford, T.P. (2007). Flavour precursor development in Cheddar cheese due to lactococcal starters and the presence and lysis of *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 17, 316-327.
- Hannon, J.A., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M., Wallace, J.M., Morrissey, P.A., Beresford, T.P., 2003. Use of autolytic starter systems to accelerate the ripening of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 13, 313-323.
- Hayaloglu, A.A., Guven, M., Fox, P.F., Hannon, J.A., McSweeney, P.L.H., 2004. Proteolysis in Turkish White brined cheese made with defined strains of Lactococcus. *International Dairy Journal*, 14(7), 599-610.
- Hayaloğlu, A.A., 2008. Türkiye'nin peynirleri-Genel bir perspektif. Türkiye 10. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı, Sayfa 729-732, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Hayaloglu, A.A., (2009). Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1388-1394.
- Husson-Kao, C., Mengaud, J., Gripon, J.C., Benbadis, L., Chapot-Chartier, M.P., 2000. Characterization of *Streptococcus thermophilus* strains that undergo lysis under unfavourable environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 55(1-3), 209-213.
- Kamber, U., 2008. The traditional cheeses of Turkey: Cheeses common to all regions. *Food Reviews International*, 24, 1-38.
- Kang, O.J., Vézinz, L.-P., Laberge, S., Simard, R.E., 1998. Some factors influencing the autolysis of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei*. *Journal of Dairy Science*, 81(3), 639-646.
- Kawabata, S., Vassal, L., Le Bars, D., Cesselin, B., Nardi, M., Gripon, J.C., Chapot-Chartier, M.P., 1997. Phage-induced lysis of *Lactococcus lactis* during Saint-Paulin cheese ripening and its impact on proteolysis. *Lait*, 77, 229-239.
- Kenny, O., FitzGerald, R.J., O'Cuinn, G., Beresford, T., Jordan, K., 2006. Autolysis of selected *Lactobacillus helveticus* adjunct strains during Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 16, 797-804.
- Kılıç, S., 2010. *Süt Mikrobiyolojisi*. Sidas Medya Ltd. Şti., İzmir, 643s.

- Kınık, O., Gursoy, O., Seckin, A.K., 2005. Cholesterol content and fatty acid composition of most consuming Turkish hard and soft cheeses. *Czech Journal of Food Sciences*, 23(4), 166-172.
- Kiernan, R.C., Beresford, T.P., O'Cuinn, G., Jordan, K.N., 2000. Autolysis of lactobacilli during Cheddar cheese ripening. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 39, 95-106.
- Koch, S., Oberson, G., Eugster-Meier, E., Meile, L., Lacroix, C., 2007. Osmotic stress induced by salt increases cell yield, autolytic activity, and survival of lyophilization of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*. *International Journal of Food Microbiology*, 117, 36-42.
- Kozakova, D., Solichova, K., Ondrackova, I., Svirakova, E., Plockova, M., 2010. Effect of some environmental factors on autolysis of lactococci used for cheese production. *Journal of Food and Nutrition Research*, 49(1), 1-9.
- Kuchroo, C.N., Fox, P.F., 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331-335.
- Law, B.A., 2001. Controlled and accelerated cheese ripening: the research basis for new technologies. *International Dairy Journal*, 11, 383-398.
- Lemée, R., Rouault, A., Guezenec, S., Lortal, S., 1994. Autolysis of 57 strains of dairy propionibacteria. *Lait*, 74, 241-251.
- Lemée, R., Lortal, S., van Heijenoort, J., 1995. Autolysis of dairy propionibacteria: isolation and renaturing gel electrophoresis of the autolysins of *Propionibacterium freudenreichii* CNRZ 725. *Lait*, 75, 345-365.
- Leroy, F., De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67-78.
- Leroy, F., Verluyten, J., De Vuyst, L., 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 270-285.
- Lortal, S., Lemée, R., Valence, F., 1997. Autolysis of thermophilic lactobacilli and dairy propionibacteria: a review. *Lait*, 77, 133-150.
- Lortal, S., Chapot-Chartier, M.-P., 2005. Role, mechanisms and control of lactic acid bacteria lysis in cheese. *International Dairy Journal*, 15, 857-871.
- Martinez, R.C.R., Staliano, C.D., Vieira, A.D., Villarreal, M.L.M., Todorov, S.D., Saad, S.M.I., Franco, D.G.M., 2015. Bacteriocin production and inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* 2a in a potentially synbiotic cheese spread. *Food Microbiology*, 48, 143-152.
- Masuda, T., Hidaka, A., Kondo, N., Ura, T., Itoh, T., 2005. Intracellular enzyme activities and autolytic properties of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus gasseri*. *Food Science and Technology Research*, 11, 328-331.

- McSweeney, P.L.H., 2011. Biochemistry of cheese ripening. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Second Edition, Fuguay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Editors), Elsevier Ltd., UK, 667-674.
- Mäyrä-Mäkinen, A., Bigret, M., 1998. Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*, Second Edition, Salminen S, von Wright A. (Editors), Marcel Dekker Inc., New York, USA, 73-102.
- Metin, M., 2005. Süt Teknolojisi: Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayın No: 33, Altıncı Baskı, Bornova, İzmir.
- Metin, M., 2014. Sütün Yapısı ve Özellikleri. Ege Üniversitesi Yayınları, Rektörlük Yayın No: 10, 4. Baskı, Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova, İzmir.
- Murga, M.L.F., Holgado A.P.R., de Valdez, G.F., 1995. Influence of the incubation temperature on the autolytic activity of *Lactobacillus acidophilus*. *The Journal of Applied Bacteriology*, 78(4), 426-429.
- Nájera-Domínguez, C., Gutiérrez-Méndez, N., 2013. Autolytic and proteolytic properties of strains of *Lactococcus lactis* isolated from different vegetables, raw-milk cheeses and commercial starter cultures. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 21-26.
- O'Donovan, C.M., Wilkinson, M.G., Guinee, T.P., Fox, P.F., 1996. An investigation of the autolytic properties of three lactococcal strains during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 6, 1149-1165.
- Ohmiya, K., Sato, Y., 1975. Promotion of autolysis in Lactobacilli. *Agricultural and Biological Chemistry*, 39(3), 585-589.
- Olson, N.F., 1990. The impact of lactic acid bacteria on cheese flavor. *FEMS Microbiology Reviews*, 87, 131-148.
- Østlie, H., Vegarud, G., Langsrud, T., 1995. Autolysis of dairy propionibacteria in buffer systems. *Journal of Dairy Science*, 78(11), 2315-2325.
- Ouzari, H., Cherif, A., Mora, D., 2002. Autolytic phenotype of *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional Tunisian dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 92(5), 812-820.
- Özer, B.H., Uzun, Y.S., Kırmacı, H.A., 2008. Effect of microencapsulation on viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during kasar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 61(3), 237-244.
- Ramirez-Nunez, J., Romero-Medrano, R., Nevarez-Moorillion, G.V., Gutierrez-Mendez, N., 2011. Effect of pH and salt gradient on the autolysis of *Lactococcus lactis* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1495-1499.
- Renner, E., 1993. Milchpraktikum Skriptum zu den Übungen, Justus Liebig Universität, Giesen, Germany.

- Riepe, H.R., Pillidge, C.J., Gopal, P.K., McKay, L.L., 1997. Characterization of the highly autolytic *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* strains CO and 2250. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(10), 3757-3763.
- Salminen, S., von Write, A., 1998. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. Second Edition, Marcel Dekker Inc., New York, USA, 640p.
- Sert, D., Ayar, A., Akın, N., 2007. The effects of starter culture on chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Turkish Kaşar Cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 60, 245-252.
- Steele, J., Broadbent, J., Kok, J., 2013. Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Current Opinion in Biotechnology*, 24, 135-141.
- Stiles, M.E., Holzapfel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Shockman, G.D., Daneo-Moore, L., Kariyama, R., Massidda, O., 1996. Bacterial walls, peptidoglycan hydrolases, autolysins and autolysis. *Microbial Drug Resistance*, 2, 95-98.
- Şimşek, Ö., Gürsoy, O., Hazır Dalca, S., Yılmaz, Y., 2016. Laktik asit bakterilerinde otoliz ve peynir teknolojisindeki önemi. *Akademik Gıda*, 14(3), 293-301.
- Tarakci, Z., Kucukoner, E., 2006. Changes on physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum packed Turkish kashar cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 7(3), 459-464.
- Todar, K., 2018. Structure and Function of Bacterial Cells. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*, [http://www.textbookofbacteriology.net/structure\\_5.html](http://www.textbookofbacteriology.net/structure_5.html), Erişim Tarihi: Ağustos, 2018.
- Urbach, G., 1995. Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products. *International Dairy Journal*, 5, 877-903.
- Uysal, H., Kınık, Ö., Kavas, G., 2004. Süt ve Ürünlerinde Uygulanan Duyusal Test Teknikleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 560, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- Üçüncü, M. 2004. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi (Cilt II). Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova, İzmir.
- Valence, F., Deutsch, S-M., Richoux, R., Gagnaire, V., Lortal, S. 2000. Autolysis and related proteolysis in Swiss cheese for two *Lactobacillus helveticus* strains. *Journal of Dairy Research*, 67, 261-271.

- Yılmaz, M., Seçilmiş, H., 2006a. Bazı serbest yağ asitlerinin metanolik HCl ortamında türevlendirilmesindeki koşulların incelenmesi. III Ulusal Analitik Kimya Kongresi. Çanakkale.
- Yılmaz, M., Seçilmiş, H., 2006b. Gaz kromatografisi headspace sistemi ile süt ürünlerinde bazı aroma bileşenlerinin analizi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bildiriler Kitabı Sayfa: 625-628, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Zambonelli, C., Chiavari, C., Benevelli, M., Coloretti, F., 2002. Effects of lactic acid bacteria autolysis on sensorial characteristics of fermented foods. *Food Technology and Biotechnology*, 40(4), 347-351.



## EKLER

### EK-1

Panelist Numarası:.....

## KAŞAR PEYNİRİ DUYUSAL TESTİ

Sayın Panelist,

ÖRNEK NO:.....

LEZZET Açısından beğeni durumu

- Çok beğendim.
- Orta derecede beğendim.
- Biraz beğendim.
- Ne beğendim ne de beğenmedim.
- Biraz beğenmedim.
- Orta derecede beğenmedim.
- Hiç beğenmedim.

**Açıklama:**.....  
.....  
.....

Panelist Yaşı:.....

Panelist Cinsiyeti:  Erkek  Kadın

Panelist Çalışma Durumu:  Öğrenci  İdari Personel  
 Akademik Personel  Diğer

**Katılımınız İçin Teşekkür Ederiz.**

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Didem GÖZE  
Doğum Yeri : İzmir  
Doğum Tarihi : 14.09.1987  
Yabancı Dili : İngilizce



### Eğitim Durumu

Lise : Atatürk Anadolu Lisesi, Antalya / 2005  
Lisans : Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gümüşhane / 2014  
Yüksek Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Burdur / 2018

### Mesleki Tecrübe

- Üretim Mühendisi, Hastel Gıda San. Tic. Ltd. Şti., Organize Sanayi Bölgesi Milli Egemenlik Caddesi 40 Sk. No: 17-48, Burdur (13.04.2016-27.10.2016).
- Sorumlu Mühendis, Hanımeli Ev Yemekleri, Merkez, Burdur (12.07.2017-Halen).

### Yayınları

- Göze, D., Şimşek B., 2015. Traditional Milk Jam. The 3rd International Symposium on “Traditional Foods from Adriatic to Caucasus”, 1-4 October 2015, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Abstract Book, Page 261.